

Die spezifische Wärmekapazität
von Hämoglobin-Wasser-Mischungen
in einem Temperaturbereich
von 10°C bis 80°C

von
Reinhold Müller
aus Ludwigsburg



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543128_0037

Die spezifische Wärmekapazität
von Hämoglobin-Wasser-Mischungen
in einem Temperaturbereich
von 10 ° C bis 80 ° C

Den Naturwissenschaftlichen Fachbereichen
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Reinhold Müller
aus Ludwigsburg

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaft-
lichen Fachbereichen der Universität Erlangen-Nürnberg



Tag der mündlichen Prüfung: 26.Mai 1976

Vorsitzender der Promotionskommission: Professor Dr. H. Remmert

Erstberichterstatter: Professor Dr.N.Fiebiger

Zweitberichterstatter: Professor Dr.Dr.H.Pauly

Drittberichterstatter: Professor Dr.E.Finckh

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung	1
2 Methodik	2
2.1 Das adiabatische Kalorimeter	2
2.1.1 Der konstruktive Aufbau	2
2.1.2 Der Gesamtaufbau	4
2.2 Die Bestimmungsgleichung für die spezifische Wärme einer Probe	7
2.3 Die adiabatische Bedingung	8
2.4 Methoden zur Messung der einzelnen Bestimmungsgrößen und Fehlerbetrachtungen	10
2.4.1 Messung der Temperatur und des reziproken Temperaturanstiegs	10
2.4.2 Messung der elektrischen Leistung	13
2.4.3 Massenbestimmung	13
2.4.4 Bestimmung des Massengehaltes von Hämoglobin in Hämoglobin-Wasser-Mischungen	14
2.4.5 Leerkapazität	15
2.4.6 Wärmekapazität des Glasröhrchens	17
2.5 Mittelbar wirkende Größen	19
2.5.1 Einstellung des statischen Nullpunkts und Korrektur der Nullpunktsdrift	20
2.5.2 Kontrolle einer notwendigen adiabatischen Bedingung	23
2.5.3 Die spezifische Wärme des Wassers im Temperaturbereich von 10 °C bis 80 °C im Vergleich zu Standardwerten	27

	Seite
2.5.4 Regelschwingungen und die Zeitkonstante des Kalorimeters	29
2.5.5 Korrektur der Messungen bei abgeschlossenen Glasröhrchen	33
2.5.6 Korrektur des Luftauftriebs	34
2.5.7 Korrektur der Luftverdrängung	36
2.6 Fehler der gemessenen spezifischen Wärmen und der Denaturierungsenthalpien	37
3 Meßergebnisse	41
3.1 Herstellung der Hämoglobin-Wasser-Mischungen	41
3.2 Die spezifischen Wärmen von Hämoglobin-Wasser-Mischungen	45
3.3 Die partiellen spezifischen Wärmen für Hämoglobin-Wasser-Mischungen	51
3.4 Die Denaturierungsenthalpie	58
4 Diskussion	62
4.1 Diskussion des Verlaufes der partiellen spezifischen Wärmen in Abhängigkeit von der Temperatur	64
5 Anhang	67
5.1 Berechnung der Korrekturen für Messungen flüssiger Proben unter Dampfdruck	67
5.2 Gemessene spezifische Wärme von entgas-tem Wasser in Abhängigkeit von der Temperatur	77

	Seite
5.3 Tabelle der partiellen spezifischen Wärmen für Hämoglobin-Wasser-Mischungen mit einem Massengehalt des Hämoglobins von $0 \leq w \leq 0,5$	79
5.4 Abschätzung des statistisch zu erwarten- den Fehlers für die Denaturierungsen- thalpie	81
6 Zusammenfassung	84
7 Liste der verwendeten Symbole	86
8 Literaturverzeichnis	91
9 Verzeichnis der verwendeten Geräte	94

1 Einleitung

Ein Fernziel biophysikalischer Untersuchungen ist die Beschreibung des Zustandes einer lebenden Zelle. Zweitens ist dies in vollkommener Geschlossenheit kaum erreichbar. Ein Weg zum Ziel ist es, die Vorgänge und Bestandteile der Zelle aufzugliedern und isoliert zu betrachten. Ein Beitrag hierzu ist die kalorimetrische Untersuchung von Hämoglobin-Wasser-Mischungen in einem Temperaturbereich, der physiologisch mögliche Temperaturen einschließt.

Für die vorliegende Arbeit bestand die Aufgabe, ein Kalorimeter zu konstruieren, das möglichst genau die spezifische Wärmekapazität ¹⁾ wässriger Mischungen geringer Masse bestimmen läßt. Um aus diesen Messungen die für die Zellforschung bedeutsamen partiellen spezifischen Wärmekapazitäten berechnen zu können, ist eine relative Genauigkeit von wenigstens 1 % notwendig. Diese Genauigkeit wird mit dem beschriebenen Kalorimeter bei Probenmassen von 0,5 g erreicht.

Die durchgeführten Messungen an nativen und thermisch denaturierten Hämoglobin-Wasser-Mischungen liefern die partiellen Größen in Abhängigkeit von der Temperatur - in einem Temperaturbereich von 10 °C bis 80 °C - , in Abhängigkeit von dem Massengehalt des Proteins - in einem Bereich von 0 bis 0,5 - und in Abhängigkeit davon, ob das Protein in nativem oder denaturiertem Zustand vorliegt. Außerdem wurde noch die Denaturierungsenthalpie des Hämoglobins in Abhängigkeit vom Massengehalt bestimmt.

1) Statt spezifischer Wärmekapazität bzw. partieller spezifischer Wärmekapazität wird in der Arbeit spezifische Wärme bzw. partielle spezifische Wärme geschrieben.

2 Methodik

2.1 Das adiabatische Kalorimeter

Das Kalorimeter wurde für Serienmessungen an festen und flüssigen Proben konstruiert. Bei kleinen Proben-
volumina von etwa $0,5 \text{ cm}^3$ wurde eine möglichst hohe Genauigkeit (besser als $0,5 \%$) in der Meßgröße, der spezifischen Wärme einer Probe, angestrebt.

In der Diplomarbeit [14] war bereits ein Kalorimeter entwickelt worden, das durch Zufügen eines weiteren, dritten Mantels, Verfeinerung der elektronischen Regelung und verbesserter Stabilisierung des Meßstromkreises eine Reduktion des Meßvolumens etwa um den Faktor 3 bei verbesserter Meßgenauigkeit erlaubte.

2.1.1 Der konstruktive Aufbau

Das Kalorimeter besteht aus vier zylindersymmetrischen, konzentrisch angeordneten Teilen:

a) Kalorimeterkern:

Der Kalorimeterkern ist ein einseitig verschlossenes, doppelwandiges Röhrchen aus Kupfer. Es ist etwa 60 mm lang und hat einen Außendurchmesser von 10 mm. Die Heizwicklung befindet sich auf dem inneren Röhrchen von etwa 6 mm Durchmesser. Die Thermoelemente sind auf dem äußeren Röhrchen auf einem dünnen Klebefilm aufgeklebt und durch Drahtspannung angepreßt. Die Röhrchen werden nach der Probenaufnahme durch jeweils passende Deckel verschlossen.

b) adiabatischer Mantel:

Als adiabatischer Mantel soll der innerste der drei Schutzmäntel bezeichnet werden. Mit Hilfe einer entsprechenden Regelung (s. Abschnitt 2.5.4) soll er die adiabatische Bedingung (s. Abschnitt 2.3) einhalten. Außerdem enthält der adiabatische Mantel das Thermometer zur Bestimmung der Temperatur und des Temperaturanstieges im Kalorimeter und in der Probe (s. Abschnitt 2.4.1).

c) erster und zweiter Schutzmantel:

Die weiteren Schutzmäntel schirmen den Kern mit der Probe vom Einfluß der Zimmertemperatur ab. Sie werden wie der adiabatische Mantel mit Hilfe von Thermosäulen der Temperaturänderung des nächst inneren Mantels nachgeregelt.

In Abbildung 1 ist ein Längsschnitt des Kalorimeters dargestellt.

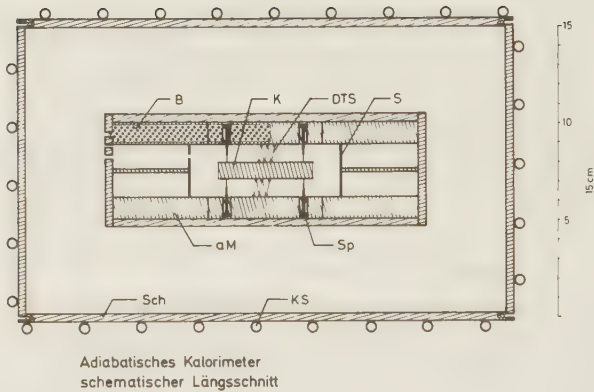


Abb. 1 : Längsschnitt des Kalorimeters mit den Teilen

- B : Bohrung für den Temperaturfühler
- K : Kalorimeterkern
- DTS : Differenzthermosäule
- S : Konvektionsschilde
- aM : adiabatischer Mantel
- Sp : Spitzen zur Halterung des Kerns
- Sch : erster Schutzmantel
- KS : Kühlschlangen .

2.1.2 Der Gesamtaufbau

Der Gesamtaufbau kann in einen konstruktiven und einen elektrischen Teil aufgegliedert werden. Die folgende Abbildung soll dies schematisch darstellen.

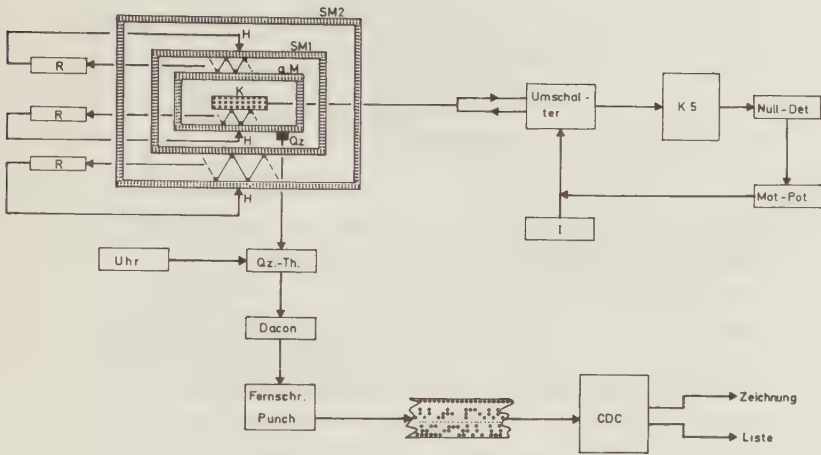


Abb. 2 : Gesamtaufbau des adiabatischen Kalorimeters, schematisch aufgeteilt in einen konstruktiven und einen elektronischen Teil. In den eckigen Klammern hinter den folgenden Bezeichnungen stehen die entsprechenden Nummern des Geräteteils (s. Abschnitt 9):

- Konstruktion: SM2 : zweiter Schutzmantel
 SM1 : erster Schutzmantel
 aM : adiabatischer Mantel
 K : Kalorimeterkern
- Elektronik: H : Heizung <1>
 DTS : Differenzthermosäule <2>
 R : Regler <3> (s. auch Abschnitt 2.5.4)
 Qz : Quarztemperaturfühler <4>
 QzTh: digitales Quarzthermometer <5>

zu Abb. 2 :
I : Hochkonstantstromquelle <6>
K5 : fünfstelliger Kompensator <7>
Uhr <8>
Dacon, ein Interface <17>
Fernschreiber mit Punch <9>
Nulldetektor <10>
Motorpotentiometer <11> ;
die Rechenanlage ist eine CDC 3300
des Rechenzentrums der Universität
Erlangen-Nürnberg .

Das Kalorimeter ist ein automatisches adiabatisches Kalorimeter. Nach einer manuellen Einstellung des statischen Nullpunktes (s. Abschnitt 2.5.1) und Auswahl eines konstanten Heizstromes werden während der gesamten Heizperiode die Temperaturen des Kalorimeters (s. Abschnitt 2.4.1) in wählbaren, konstanten Zeitabständen digital auf Lochstreifen und in lesbaren Zahlen auf Papier ausgegeben. Der Kompensator erlaubt es, mit Hilfe des Umschalters <12> abwechselnd den Heizstrom und den Spannungsabfall an dem Heizwiderstand des Kerns zu bestimmen. Ein Motorpotentiometer, das von einem Nulldetektor angesteuert wird, sorgt für konstanten Heizstrom. Die Schwankungen des Meßstromes entsprechen damit etwa der Meßgenauigkeit des Kompensators mit angeschlossenem Nulldetektor. Es genügt, wenn während einer achtstündigen Heizperiode der Spannungsabfall über dem Heizwiderstand des Kerns etwa acht mal gemessen wird. Leistung, Zeit und Temperatur sind die primären Meßgrößen zur Berechnung der Wärmekapazität des Kalorimeterkerns mit Probe.

2.2 Die Bestimmungsgleichung für die spezifische Wärme einer Probe

Für das Differential der Enthalpie dH des Systems aus Kalorimeterkern mit oder ohne Probe gilt:

$$(1) \quad dH = q + w + V \cdot dP \quad 1)$$

q : infinitesimale Wärmemenge, die dem System zugeführt wird
 w : infinitesimale Arbeit, ohne Volumenarbeit, die an dem System geleistet wird
 V : Volumen des Systems
 P : Druck .

Folgende Voraussetzungen seien erfüllt:

a) Das System stehe unter konstantem Druck (Normaldruck):

$$(2) \quad dP = 0 \quad .$$

b) Es sei kein Wärmeaustausch mit der Umgebung möglich:

$$(3) \quad q = 0 \quad .$$

c) Die gesamte Energie, die dem System zugeführt wird, sei elektrische Energie:

$$(4) \quad w = w_{el} = U \cdot I \cdot dt$$

w_{el} : infinitesimale elektrische Energie, die dem System zugeführt wird
 U : elektrische Spannung an einem Heizwiderstand
 I : elektrischer Strom durch einen Heizwiderstand
 t : Zeit .

1) In Anlehnung an E.A. GUGGENHEIM [7] werden infinitesimale Größen, die kein vollständiges Differential bilden, durch kleine Buchstaben dargestellt.

Somit ergibt sich für die Wärmekapazität C_P^K des Systems aus Kalorimeterkern mit oder ohne Probe:

$$(5) \quad C_P^K = \left(\frac{\partial H}{\partial T} \right)_P = U \cdot I \cdot \frac{dt}{dT}$$

T : Temperatur .

Hieraus ergibt sich die Wärmekapazität einer Probe C_P^v aus der Differenz der Wärmekapazitäten bei vollem C_P^v und leerem Kern C_P^1 :

$$(6) \quad C_P = C_P^v - C_P^1 .$$

Durch Division mit der durch Wägung bestimmten Probenmasse m erhält man die spezifische Wärme einer Probe c_P :

$$(7) \quad c_P = (C_P^v - C_P^1) / m .$$

Bei der Messung flüssiger Proben sind noch einige Besonderheiten zu berücksichtigen (s. Abschnitt 2.4). In den Abschnitten 2.5.1 , 2.5.5 , 2.5.6 und 2.5.7 werden noch einige andere Überlegungen zu Korrekturen der nach Gleichung (7) bestimmten spezifischen Wärme gemacht.

2.3 Die adiabatische Bedingung

Der Ausdruck adiabatische Bedingung soll hier mit der Bedingung (3), $q = 0$, identifiziert werden. Diese Bedingung soll durch die Regelung des adiabatischen Mantels kontrolliert werden.

Prinzipiell läßt sich die Bedingung (3) einfach ersetzen durch:

$$(8) \quad T_K = T_M \quad \text{für alle Zeiten}$$

T_K : Temperatur des Kerns

T_M : Temperatur des Mantels .

Es ist jedoch zu beachten, daß ein Körper endlicher Ausdehnung keine einheitliche Temperatur haben kann. Unter T_K und T_M sind mittlere Temperaturen zu verstehen. Diese meßtechnisch so zu erfassen, daß mit (8) auch die Bedingung (3) erfüllt wird, ist eine der Hauptaufgaben bei der Konstruktion eines adiabatischen Kalorimeters.

In der Diplomarbeit [14] wurde gezeigt, daß für symmetrische Geometrie von Kern und Mantel eine schwächere aber für diese Zwecke ausreichende Bedingung mit Hilfe einer Thermosäule und einer nachgeschalteten Regelung eingehalten werden kann (s. auch Abschnitt 2.5.1). Die schwächere Bedingung fordert das Verschwinden des Nettowärmestromes $\dot{Q}$ durch eine gedachte Hülle um den Kalorimeterkern:

$$(9) \quad - \dot{Q} = \iiint \operatorname{div} \underline{j} \cdot d\tau = \oint \underline{j} \cdot d\underline{f} = 0$$

$\underline{j}$: Wärmestromdichte
 $d\tau$: Volumenelement
 $d\underline{f}$: Flächenelement .

Es läßt sich zeigen, daß für symmetrische Geometrie, flächengleich verteilte Lötstellen und für Thermospannungen $u(T_{Ki} - T_{Mi})$ der einzelnen Thermopaare i , die bei kleinen Temperaturdifferenzen annähernd linear sind, Bedingung (9) durch

$$(10) \quad U_{DTS} = \sum_{i=1}^{N_T} u(T_{Ki} - T_{Mi}) = 0$$

U_{DTS} : Thermospannung an der Differenzthermosäule
 N_T : Anzahl der Thermopaare

ersetzt werden kann. Die elektronische Regelung wird so eingestellt, daß diese Bedingung optimal erfüllt ist.

2.4 Methoden zur Messung der einzelnen Bestimmungsgrößen und Fehlerbetrachtungen

Meßgrößen für die Bestimmung der spezifischen Wärme c_P einer flüssigen Probe, die in einem Glasröhrchen eingeschlossen ist, sind die Temperatur, der Differenzenquotient $\frac{\Delta t}{\Delta T}$, die elektrische Leistung L , die Masse der Probe m , die Leerkapazität C_P^1 und die Wärmekapazität C_P^G des Glasröhrchens. Mit den Gleichungen (7) und (5) ergibt sich:

$$(11) \quad c_P = (L \cdot \frac{\Delta t}{\Delta T} - C_P^1 - C_P^G) / m \quad .$$

2.4.1 Messung der Temperatur und des reziproken Temperaturanstiegs

Der Temperaturfühler des Quarzthermometers ist zu groß, um die Temperatur der Probe direkt bestimmen zu können. Deshalb wurde eine Anordnung nach P. MILBERS [12] gewählt, bei der die Temperatur des adiabatischen Mantels gemessen wird. Mit der Bedingung (8) bzw. (10) ist gesichert, daß Kern und Mantel zu jeder Zeit die gleiche mittlere Oberflächentemperatur besitzen. Eine Eigenschaft der Temperaturbestimmung mit einem Quarzfühler ist es, daß nicht die mittlere Oberflächentemperatur T_M des Mantels bestimmt wird, sondern die Temperatur T_F im Inneren des Mantels am Ort des Fühlers. Da der Mantel mit lokalen Wärmequellen (Heizdraht) ausgestattet ist, bildet sich in ihm ein Temperaturgradient aus. In der Diplomarbeit wurde gezeigt, daß der reziproke Temperaturanstieg nach einer entsprechenden Einschwingzeit an allen Stellen im Kalorimeterkern und im adiabatischen Mantel gleich sein muß. Die Einschwingzeit richtet sich

nach der Zeitkonstanten des Systems aus Kern und Mantel. Nach einer Einschwingzeit von 20 Minuten mißt bei diesem Kalorimeter der Meßfühler den richtigen reziproken Temperaturanstieg. Die Temperatur T_F wird jedoch immer eine konstante Differenz zu der Temperatur T_K des Kerns aufweisen:

$$(12) \quad T_K - T_F = \Delta T_P$$

ΔT_P : die Temperaturdifferenz,
die für eine bestimmte
Probe im Kern auftritt .

Die Temperaturdifferenz ΔT_P kann experimentell bestimmt werden. Es gilt für dieses Kalorimeter bei Aufheizgeschwindigkeiten von etwa 10 K/h und für die hier gemessenen Proben:

$$\Delta T_P = + 0,04 \text{ K} \pm 0,02 \text{ K} .$$

Die von dem Quarzthermometer ausgegebenen Werte werden mit ΔT_P korrigiert (s. [14]).

Laut Hersteller sind die von dem Thermometer ausgegebenen Werte nach einer Tabelle zu korrigieren. In Tabelle 1 sind die Korrekturen für den verwendeten Temperaturfühler angegeben.

Tabelle 1 : Korrekturen der vom Thermometer angegebenen
Temperaturen in K für die entsprechenden
Temperaturen in $^{\circ}\text{C}$

0 $^{\circ}\text{C}$	: $\pm 0,00 \text{ K}$	50 $^{\circ}\text{C}$	: $\pm 0,00 \text{ K}$
10	: $+ 0,01$	60	: $\pm 0,00$
20	: $+ 0,01$	70	: $+ 0,01$
30	: $+ 0,01$	80	: $+ 0,01$
40	: $+ 0,01$		

Auf die Korrektur nach Tabelle 1 wurde verzichtet in Anbetracht der größeren Unsicherheit von ΔT_P .

Sei hier der Fehler für die Temperatur T mit δT bezeichnet, so ergibt sich daraus ein Fehler für die spezifische Wärme einer Probe in Abhängigkeit von der Änderung dc_P/dT . Für Proben mit $dc_P/dT = 0,01 c_P/K$, resultiert ein Fehler $\delta_T c_P$ für die spezifische Wärme einer Probe von:

$$(13) \quad \delta_T c_P = 0,01 c_P \cdot T/K = 2 \cdot 10^{-4} c_P.$$

Nach Angaben des Herstellers können die Korrekturwerte in der Tabelle 1 durch eine glatte Kurve ausgeglichen werden. Auch dann treten Fehler $\delta \Delta T$ im Temperaturinkrement ΔT auf. Der relative Fehler ergibt sich zu:

$$(14) \quad \delta \Delta T / \Delta T = 10^{-2} K / 5 \cdot K = 2 \cdot 10^{-3}.$$

Dies ist bis auf noch kleinere Schwankungen in ΔT kein statistischer sondern ein systematischer Fehler, der durch die Meßmethode der Temperatur, hier durch den Schliff eines Quarzkristalls, bedingt ist.

Zur Bestimmung des reziproken Temperaturanstieges gehört auch eine Zeitmessung. Die Zeit wird mit Hilfe eines Schwingquarzes bestimmt. Bei Zeitintervallen Δt von etwa 100 s, das entspricht den Versuchsbedingungen, beträgt der relative Fehler:

$$(15) \quad \delta \Delta t / \Delta t = 10^{-5}.$$

2.4.2 Messung der elektrischen Leistung

Mit Hilfe eines Kompensators <7> wird der Spannungsabfall U_H über dem Heizwiderstand R_H sowie der Spannungsabfall U_N über einem in Serie geschalteten Normalwiderstand R_N <13> gemessen. Die elektrische Leistung ergibt sich zu:

$$(16) \quad L = U \cdot I = U_H \cdot U_N / R_N \quad .$$

Für die relativen Fehler der Größen gilt etwa folgendes:

$$\delta U_H / U_H = \delta U_N / U_N = \delta R_N / R_N = 10^{-5} \quad .$$

Der relative Fehler der Leistung beträgt damit etwa:

$$(17) \quad \delta L / L = 2 \cdot 10^{-5} \quad .$$

2.4.3 Massenbestimmung

Alle Wägungen werden auf einer Balkenwaage [14] durchgeführt. Ihre absolute Genauigkeit beträgt etwa $5 \cdot 10^{-5}$ g. Zur Bestimmung der Masse flüssiger Proben sind drei Wägungen nötig. Hier betrug die Probenmasse etwa 0,5 g. Damit ergibt sich für die Probenmasse ein relativer Fehler von etwa:

$$(18) \quad \delta m / m = 1,8 \cdot 10^{-4} \quad .$$

Die Korrektur des Luftauftriebs wird in Abschnitt

2.5.6 besprochen.

2.4.4 Bestimmung des Massengehaltes von Hämoglobin in Hämoglobin-Wasser-Mischungen

Der Massengehalt des Proteins der Proben wird mit Hilfe einer Trockenmassebestimmung gemessen. Ein bis drei Gramm der homogenen Mischung, der auch die Probe entnommen wird, werden in mehrere Aluminiumschälchen gegeben. Die Schälchen werden nach zunächst ansteigender Temperatur, um ein Sieden zu vermeiden, bei 108 °C so lange im Trockenofen gehalten, bis Massenkonzanz erreicht ist. Durch Differenzmessung kann die Trockenmasse bestimmt werden.

Der Massengehalt w_2 des Proteins in der Mischung ist definiert zu:

$$(19) \quad w_2 = m_t/m_M = \frac{m_2}{m_1 + m_2}$$

m_t	: Trockenmasse
m_M	: Masse der Mischung
m_1	: Masse des Wassers in der Mischung
m_2	: Masse des Proteins in der Mischung .

Im Folgenden wird statt w_2 nur w geschrieben. Für die Masse der Mischung in den Schälchen ergibt sich ein relativer Fehler von etwa $5 \cdot 10^{-5}$ (s. Abschnitt 2.4.3). Für die Trockenmasse ergibt sich ein relativer Fehler, der vom Massengehalt abhängt:

$$\delta m_t/m_t = 5 \cdot 10^{-5}/w \quad .$$

Der relative Fehler für w beträgt damit etwa:

$$(20) \quad \delta w/w = 10^{-4}/w \quad .$$

Die Korrektur des Luftauftriebs ist bei der Bestimmung des Massengehaltes zu vernachlässigen, da sich die ge-

ringen Unterschiede der Dichten von Wasser und dem Protein in Gleichung (19) kaum auswirken.

2.4.5 Leerkapazität

Der Fehler der Leerkapazität setzt sich zusammen aus den Fehlern aus den Abschnitten 2.4.1 , 2.4.2 und den Fehlern der mittelbar wirkenden Größen aus 2.5.1 bis 2.5.4 . Aus Tabelle 3 (s. Abschnitt 2.6) kann der Fehler $\mathcal{C}_P^1$ abgeschätzt werden:

$$(21) \quad \mathcal{C}_P^1 = 4,4 \cdot 10^{-3} \text{ J/K} \quad .$$

Abbildung 3 zeigt Messungen der Leerkapazität in Abhängigkeit von der Temperatur. Aus insgesamt 815 Meßpunkten wird eine Ausgleichskurve berechnet. Die Meßpunkte haben von der Ausgleichskurve eine Standardabweichung von etwa $3 \cdot 10^{-3} \text{ J/K}$, das entspricht 0,15 % der Meßwerte.

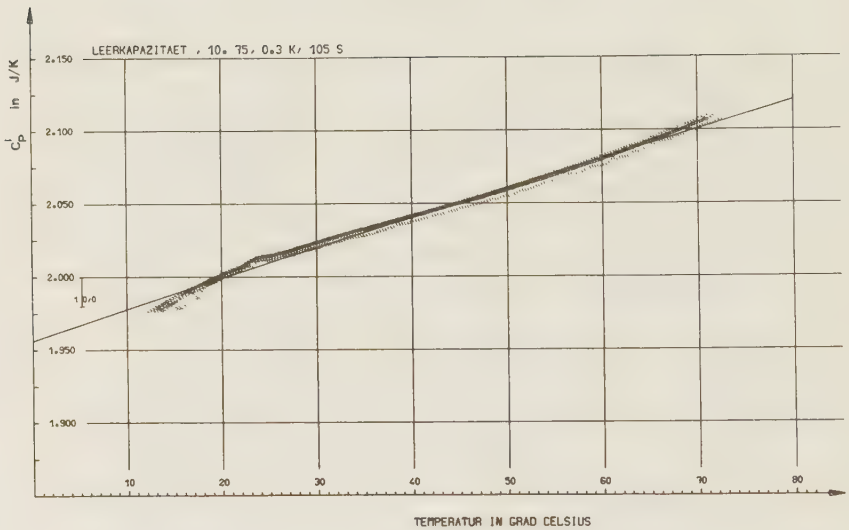


Abb. 3 : Leerkapazität in Abhängigkeit von der Temperatur, die Ausgleichskurve für die Meßpunkte ist durch eine durchgezogene Linie dargestellt; die Abbildung ist von einem rechnergesteuerten Plotter hergestellt; der Text am Kopf der Abbildung (und ähnlicher folgender Abbildungen) bezieht sich auf Daten der Messung (Probe, Datum, Aufheizgeschwindigkeit, Massengehalt in % u.ä.); neben der Ordinate ist ein Balken mit einer Länge von etwa einem Prozent des Meßwertes eingetragen.

2.4.6 Wärmekapazität des Glasröhrchens

Für den Fehler der Glaskapazität sind die Fehler aus den Abschnitten 2.4.1 bis 2.4.5 und 2.5.1 bis 2.5.5 verantwortlich. Aus Tabelle 3 (Abschnitt 2.6) kann der Fehler δC_p^G abgeschätzt werden:

$$(22) \quad \delta C_p^G = 2,6 \cdot 10^{-3} \text{ J/K} \quad .$$

Die Glasmasse betrug gewöhnlich 1 g . Als relativer Fehler der Glasmasse wurde $2 \cdot 10^{-4}$ angenommen, da sie durch Differenzwägung bestimmt wird (s. Abschnitt 2.4.3).

Abbildung 4 zeigt Messungen der spezifischen Wärme der verwendeten Glassorte in Abhängigkeit von der Temperatur. Die Standardabweichung der 429 Meßpunkte von der berechneten Ausgleichskurve beträgt $7,5 \cdot 10^{-4} \text{ J/g K}$ oder etwa 0,1 % des Meßwertes.

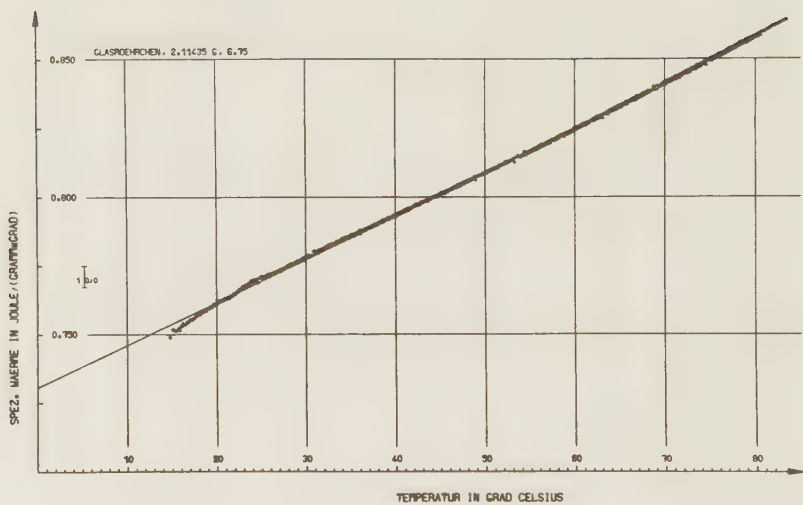


Abb. 4 : Spezifische Wärme der verwendeten Glassorte
in Abhängigkeit von der Temperatur .

2.5 Mittelbar wirkende Größen

Die adiabatische Meßmethode läßt eine absolute Bestimmung der Enthalpie und damit der spezifischen Wärme einer Probe ohne Eichung mit irgendwelchen Eichsubstanzen zu. Bei absoluten Messungen ist eine Fehlerbetrachtung anhand der Bestimmungsgleichung (11) nicht hinreichend. Es müssen zusätzlich die Unsicherheiten in der Einhaltung der Bedingungen (2) und (3) untersucht werden. Denn diese Bedingungen führen erst zu der Bestimmungsgleichung (11) und haben somit wesentlichen Einfluß auf das Meßergebnis.

Bedingung (2) $dP = 0$:

Die Einhaltung dieser Bedingung in einem luftgefüllten Kalorimeter ist relativ unproblematisch. Zudem haben geringe Änderungen von P auf die Enthalpie einer festen oder flüssigen Probe nur geringen Einfluß (s. dazu die letzte Korrektur im Anhang 5.1). Für flüssige Proben, die grundsätzlich in geschlossenen Behältern (hier Glasröhrchen) gemessen werden müssen, wird die Bedingung getrennt untersucht (s. Abschnitt 2.5.5).

Bedingung (3) $q = 0$:

Die Meßmethode, mit der diese Bedingung kontrolliert wird, wurde bereits in Abschnitt 2.3 besprochen. In den folgenden Abschnitten 2.5.1 und 2.5.2 werden einige mögliche Fehler in der Adiabase untersucht.

2.5.1 Einstellung des statischen Nullpunkts und Korrektur der Nullpunktsdrift

Die Annahme mittlerer Oberflächentemperaturen von Kern T_K und adiabatischem Mantel T_M in Gleichung (8), $T_K = T_M$, setzt ein gewichtetes Mittel voraus. Wie zu wichten ist, wird bestimmt durch Bedingung (9), die verlangt, daß der Nettowärmefluß $\dot{Q}$ verschwindet. Die mittleren Oberflächentemperaturen seien so definiert, daß gilt:

$$(23) \quad \dot{Q} = 0 \iff T_K - T_M = 0.$$

Gilt Bedingung (3), $q = 0$, zu jeder Zeit, so folgt daraus (23). Die Umkehrung gilt im allgemeinen nicht, da nach (23), entsprechend Gleichung (9), an der Oberfläche des betrachteten Systems durchaus Wärmestromdichten $j \neq 0$ zugelassen sind. Dies widerspricht aber der Definition eines thermisch isolierten Systems und damit der Bedingung $q = 0$.

Durch Verwendung einer Thermosäule wird die integrale Eigenschaft des Systems nach Gleichung (9), $\dot{Q} = 0$, kontrolliert. Werte von $j \neq 0$ an bestimmten Oberflächenelementen können nicht erkannt werden. Unter der Voraussetzung, daß die Temperaturgradienten in der Probe nicht zu groß werden, stören aber solche nicht verschwindende Wärmestromdichten die kalorische Messung nicht. Einfache Abschätzungen zeigen, daß die maximal möglichen Temperaturgradienten in der Probe zu vernachlässigen sind (s. [14]). Damit ist für die Praxis die meßbare Bedingung (23) mit der theoretisch geforderten Bedingung (3) äquivalent.

Mit (23) ist die Wichtung für die Temperaturen der Oberflächenelemente, an denen Lötstellen der Thermopaare angebracht sind, bestimmt. Eine konstruktive Lösung dieses Problems ist eine symmetrische Geometrie von Kern und Mantel und flächengleich verteilte Löt-

stellen der Thermosäule.

Als weitere Parameter können sich noch die Temperatur des Kalorimeters, die Raumtemperatur, die Luftfeuchtigkeit, die Eigenschaft der Kernfüllung (Probe) u.a. auf die Adiabasis auswirken. Bei all diesen Imponderabilien gelingt es doch, durch symmetrische Geometrie, homogenes Oberflächenmaterial und geeignet angebrachte Thermoelemente mit einer elektronischen Regelung nach der Bedingung (10), $U_{DTS} = 0$, für Adiabasis zu sorgen.

Eine Möglichkeit verbleibende Differenzen zwischen Bedingung (10) und der Bedingung (3), $q = 0$, zu korrigieren, ist die sogenannte statische Nullpunktseinstellung. Die Nullpunktseinstellung besteht darin, daß bei abgeschalteter Kernheizung ($w_{el} = 0$) der elektrische Nullpunkt der Thermosäule durch Kompensation so lange verstellt wird, bis Adiabasis besteht. Für den Kern gilt Gleichung (1) :

$$dH = q + w + V \cdot dP \quad .$$

Mit denselben Annahmen wie oben:

$$w = w_{el} = 0 \quad (\text{Heizung abgeschaltet}),$$

$$dP = 0 \quad \text{und}$$

$$q = 0$$

gilt:

$$(24) \quad dH = q = 0 \quad .$$

Ist für den Kern unter diesen Bedingungen keine Enthalpieänderung erlaubt, so kann auch keine Temperaturänderung auftreten. Die Bedingung für den statischen Nullpunkt ist mit den Gleichungen (8) und (12):

$$(25) \quad dT_K = dT_M = dT_F = 0 \quad .$$

Die Temperatur des Temperaturfühlers T_F wird während der Nullpunktseinstellung registriert. Ist eine Temperaturkonstanz von etwa 10^{-4} K/20 min erreicht, wird mit der Messung begonnen. Die Auswirkung des Fehlers δT_0 in der Temperaturkonstanz bei der Nullpunktseinstellung auf die Aufheizgeschwindigkeit $\Delta T/\Delta t$ von etwa 10 K/h kann berechnet werden:

$$(26) \quad \delta \Delta T_0 / \Delta T = \frac{10^{-4} \text{ K}}{20 \text{ min}} \frac{60 \text{ min}}{10 \text{ K}} = 3 \cdot 10^{-5} .$$

Für die Nullpunktseinstellung kommt auch die Temperatur des Kalorimeters als Parameter zum tragen, sodaß die Äquivalenz von (10) und (3) nur für die Temperatur gilt, bei der die Nullpunktseinstellung vorgenommen wird. Erfolgen die Messungen über ein Temperaturintervall von etwa 70 K, kann es bei erneuter Nullpunktseinstellung zu Differenzen der Kompensationsspannungen an der Thermosäule bis zu 0,6 μ V kommen.

Die Thermosäule aus Kupfer und ISOTAN <2> hat eine Empfindlichkeit von 336 μ V/K. Die Wärmeflußkonstante für das System (Kalorimeterkern-adiabatischer Mantel) wurde auf zwei verschiedene Arten experimentell zu $28,2 \cdot 10^{-3}$ W/K bestimmt. Damit läßt sich ein maximaler Fehler durch die Nullpunktsdrift berechnen. Die Nullpunktsdrift bewirkt einen Fehler in der Adiabasie durch einen Wärmestrom und verfälscht somit die elektrisch gemessene Heizleistung. Der maximale Fehler infolge der Nullpunktsdrift am Ende des Temperaturintervalls, in dem die Messung verlief, sei mit δL_D bezeichnet. Es gilt:

$$(27) \quad \delta L_D = \frac{0,6 \mu\text{V}}{336 \mu\text{V/K}} \frac{28,2 \cdot 10^{-3} \text{ W/K}}{1} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ W} .$$

Verglichen mit Heizleistungen von etwa 10^{-2} W entspricht das einem relativen Fehler von 0,5 %. Dieser Fehler wird linear mit der Temperaturänderung des Kalorimeters kor-

rigiert, sodaß die Anfangswerte und Endwerte einer Messung keine Fehler δL_D enthalten.

Abweichungen von der Linearität der Korrektur wurden in dem gesamten Meßbereich von 10°C bis 80°C untersucht. Es zeigte sich, daß diese Abweichungen Fehler nach sich ziehen, die sich in der Größenordnung des Fehlers der Nullpunktseinstellung auswirken. Der Fehler δL_{nl} durch Wärmestrom infolge von Abweichungen von der linearen Korrektur beträgt etwa:

$$(28) \quad \delta L_{nl} = 3 \cdot 10^{-7} \text{ W} .$$

2.5.2 Kontrolle einer notwendigen adiabatischen Bedingung

Eine Eigenschaft dieser Art der Nullpunktseinstellung (s. Abschnitt 2.5.1) ist es, daß sie statisch ist, das heißt, daß sie nur für eine Aufheizgeschwindigkeit Null gilt. Das Kalorimeter wird jedoch bei kontinuierlich ansteigender Temperatur betrieben. Es ist vor allem eine Frage der Aufheizgeschwindigkeit, aber auch der Geometrie, ob eine statische Nullpunktseinstellung dynamisch auch noch ausreichend gut ist. Aufschluß darüber geben indirekte Untersuchungen. Die eine ist die Kontrolle einer notwendigen adiabatischen Bedingung, die verlangt, daß das Meßergebnis (Wärmekapazität oder spezifische Wärme) von der Aufheizgeschwindigkeit unabhängig ist. Abbildung 5 zeigt Messungen der Leerkapazität bei Aufheizgeschwindigkeiten von $3,6 \text{ K/h}$ und $7,2 \text{ K/h}$.

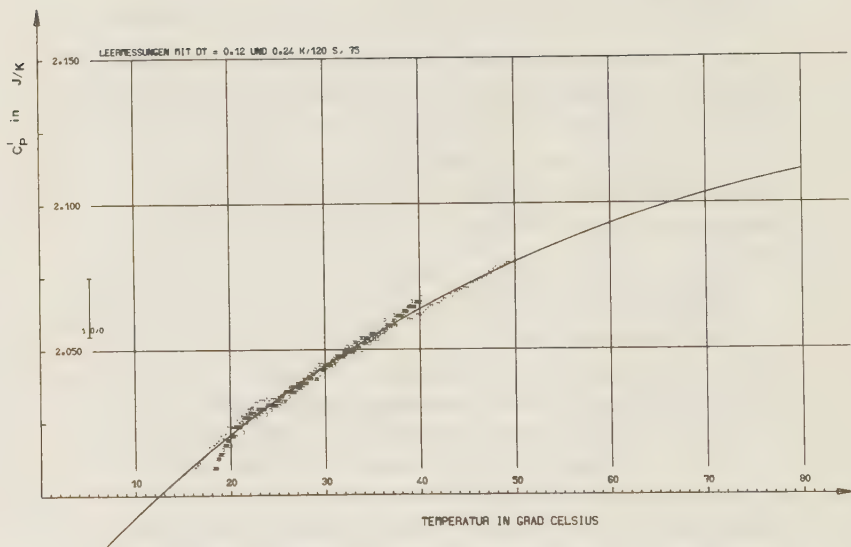


Abb. 5 : Leerkapazität in Abhängigkeit von der Temperatur; Meßpunkte bei einer Aufheizgeschwindigkeit von 3,6 K/h (□) und bei einer Aufheizgeschwindigkeit von 7,2 K/h (+).

Es ist wichtig bei der Kontrolle der notwendigen adiabatischen Bedingung, daß sie auch mit Proben durchgeführt wird, um die Einflüsse der Probenkapazität und der Materialeigenschaften der Probe zu erkennen. Abbildung 6 zeigt Messungen mit einer Kupferprobe bei den Aufheizgeschwindigkeiten von 3,6 K/h und 14,7 K/h.

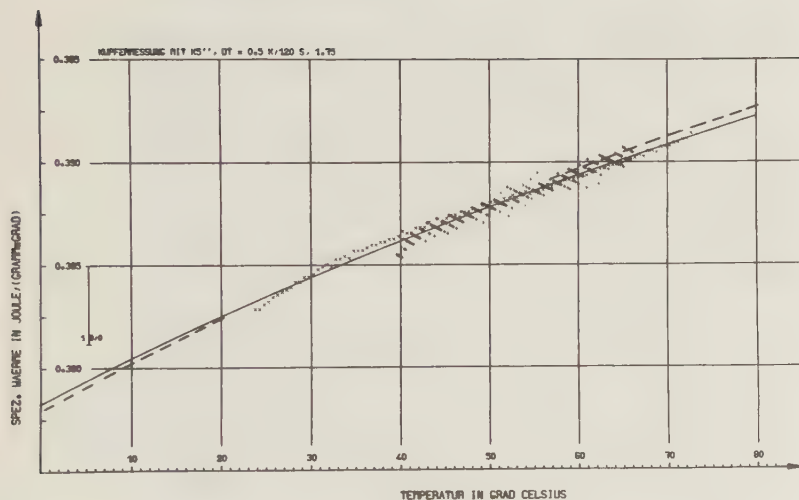


Abb. 6 : Spezifische Wärme von Kupfer in Abhängigkeit von der Temperatur, gemessen bei den Aufheizgeschwindigkeiten von 3,6 K/h ($\diamond$) und 14,7 K/h ($\times$) ; die durchgezogene Linie ergibt sich durch Ausgleichung der Meßpunkte, die gestrichelte Linie ist eine Ausgleichskurve nach Daten von H.L. BRONSON [2] .

Wie beide Abbildungen zeigen, hat die Aufheizgeschwindigkeit im Rahmen der Meßgenauigkeit keinen Einfluß auf das Meßergebnis. Die notwendige adiabatische Bedingung

ist für dieses Kalorimeter erfüllt.

Eine weitere Besonderheit ist in den Abbildungen 5 und 6 zu erkennen. Die diskreten Ketten der Meßpunkte der langsamen Messungen resultieren aus dem begrenzten Auflösungsvermögen der Temperaturmessung, das hier 10^{-4} K beträgt. Spätere Messungen wurden mit einem Quarzthermometer der Auflösung 10^{-5} K durchgeführt. Die negative Steigung der Punktketten bei der Leerkapazitätsmessung macht den Einfluß der Korrektur der Nullpunktsdrift anschaulich. Der geringe Anstieg der Heizleistung, der durch den Anstieg des Heizwiderstandes mit steigender Temperatur bedingt ist, würde eine leicht positive Steigung der Punktketten nach sich ziehen. Dies wird durch den stärkeren Einfluß der Korrektur der Nullpunktsdrift überdeckt. Die weit größere Neigung der Punktketten (relativ zum Meßwert) bei der Kupfermessung kommt dadurch zustande, daß zusätzlich zur Korrektur der Nullpunktsdrift auch die Subtraktion einer ansteigenden Leerkapazität Einfluß hat. Diese Einflüsse können anhand der Gleichung (11) diskutiert werden.

In der Diplomarbeit wurde gezeigt, daß aus der notwendigen adiabatischen Bedingung nicht geschlossen werden kann, daß für alle Aufheizgeschwindigkeiten die Adiabasie erfüllt ist. Ein der Aufheizgeschwindigkeit proportionaler Fehler (Wärmestrom) kann durch die notwendige Bedingung nicht ausgeschlossen werden. Deshalb kann auch nicht geschlossen werden, daß die statische Nullpunktseinstellung für den dynamischen Fall hinreichend ist. Aus diesem Grunde muß eine weitere Kontrolle der Adiabasie erfolgen (s. Abschnitt 2.5.3).

2.5.3 Die spezifische Wärme des Wassers im Temperaturbereich von 10 °C bis 80 °C im Vergleich zu Standardwerten

Eine weitere Kontrolle der Adiabase erfolgt ebenfalls indirekt durch den Vergleich eigener Messungen mit Literaturwerten. In Abbildung 6 ist ein Vergleich bereits gemacht worden, der zeigt, daß die Meßpunkte bis auf Abweichungen, die der Meßgenauigkeit entsprechen, mit den Werten von H.L. BRONSON [2] übereinstimmen. Wichtiger noch ist ein Vergleich an einer international anerkannten Standardsubstanz. Für die folgenden Messungen wässriger Lösungen bietet sich Wasser geradezu an. Zudem wird Wasser in denselben Glasröhrchen gemessen, in denen auch die Hämoglobinproben verschlossen werden. Abbildung 7 zeigt die spezifische Wärme von Wasser in Abhängigkeit von der Temperatur. Für die 381 Meßwerte wurde eine Ausgleichsfunktion berechnet, die durch eine durchgezogene Linie dargestellt ist.

Die lineare, dreiparametrische, phänomenologische Ausgleichung erfolgt nach der Gleichung:

$$(29) \quad c_p = a_1 + a_2 \cdot T + a_3 \cdot T^{-2} \quad .$$

Die Koeffizienten a_1 , a_2 , a_3 werden üblicherweise für organische und anorganische Stoffe berechnet [10]. Die Ausgleichung der Wasser- oder auch der Lerkapazitätsmessung hat keine andere Bedeutung, als mit möglichst wenigen Parametern einen analytischen Ausdruck für die Meßgröße zu erhalten, mit dem weitere Berechnungen durchgeführt werden können (z.B. Subtraktion der Leerkapazität, Berechnung der partiellen spezifischen Wärmen u.ä.). Für die Wassermessung ergab sich folgender Ausdruck:

$$(30) \quad c_p = (1,76169 + 5,06069 \cdot 10^{-3} \{T\} + 81170 \{T^{-2}\}) \text{ J/g K} \quad .$$

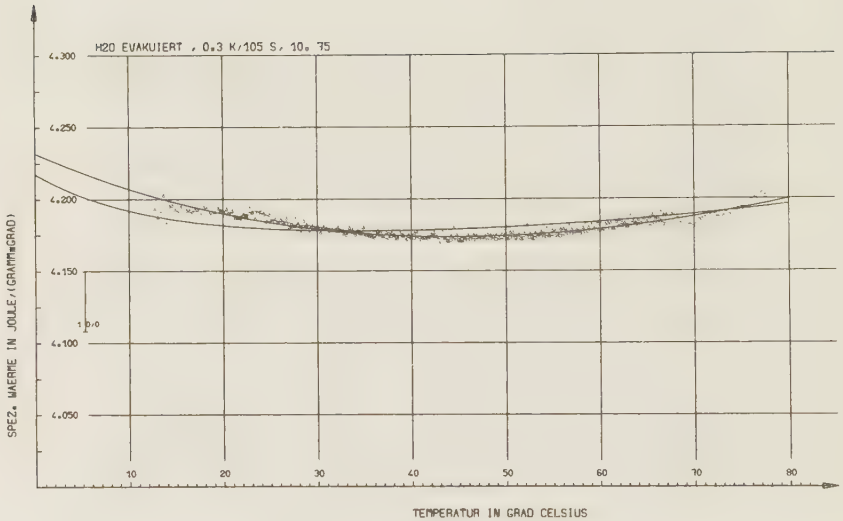


Abb. 7 : Spezifische Wärme von entgastem Wasser in Abhängigkeit von der Temperatur, gemessen bei einer Aufheizgeschwindigkeit von 10,3 K/h ; die bei 0 °C höher beginnende durchgezogene Linie ergibt sich durch Ausgleichung der Meßwerte, die tiefer beginnende ergibt sich nach Werten aus LANDOLT BÖRNSTEIN [10] .

Eine zweite in Abbildung 7 ebenfalls durchgezogene Linie ergibt sich nach den Werte aus LANDOLT BÖRNSTEIN [10] , die als die wahrscheinlichsten Werte für Wasser

betrachtet werden können (s. auch N.S. OSBORNE [15] und [23]). Die eigenen Meßwerte haben von der entsprechenden Ausgleichskurve eine Standardabweichung von $3 \cdot 10^{-3}$ J/g·K oder etwa 0,08 % des Meßwertes. Die Ausgleichskurve weicht von den Literaturwerten wiederum um nicht mehr als $8 \cdot 10^{-3}$ J/g·K oder etwa 0,2 % des Meßwertes ab.

Es soll hier noch einmal erwähnt werden, daß der Vergleich der Meßergebnisse mit Literaturwerten kein hinreichender Beweis für ein gutes adiabatisches Kalorimeter ist, wenn nur Messungen verglichen werden, die bei einer bestimmten Aufheizgeschwindigkeit gewonnen werden. Daß Literaturwerte im Rahmen der Meßgenauigkeit reproduziert werden, ist ebenfalls nur eine notwendige Bedingung.

Sind jedoch diese Bedingung und die notwendige adiabatische Bedingung, wie sie oben definiert wurde (s. Abschnitt 2.5.1), erfüllt, dann ist die Adiabasie des Kalorimeters hinreichend bewiesen. Beide Bedingungen zusammen fordern nämlich, daß Literaturwerte auch bei verschiedenen Aufheizgeschwindigkeiten ¹⁾ im Rahmen der Meßgenauigkeit reproduziert werden.

2.5.4 Regelschwingungen und die Zeitkonstante des Kalorimeters

Die schnelle und exakte Regelung ist bei der hier besprochenen Art eines adiabatischen Kalorimeters von großer Bedeutung. Die gesamte Regelung besteht im

1) Für ein bestimmtes Kalorimeter können natürlich nicht alle denkbaren Aufheizgeschwindigkeiten zugelassen werden. Hier sollen Werte von 3 K/h bis 15 K/h zugelassen sein.

Wesentlichen aus der Regelstrecke (d.i. das System aus Kalorimeterkern und adiabatischem Mantel, die Thermosäule und der Verstärker <15>), der eigentlichen Reglereinheit und der Heizspannungsversorgung für den Heizwiderstand auf dem Mantel. Die Reglereinheit <3> ¹⁾ ist ein verzögert nachgebender Regler, das heißt ein Zweipunktregler mit doppelter Rückführung, der ein PID-Verhalten aufweist. Regler dieser Art werden von G. PRESSLER [18] und auch von E. WALDEN [22] beschrieben. Abbildung 8 zeigt ein Prinzipschaltbild der adiabatischen Regelung. Analoge aber speziell optimierte Regler sind für die beiden äußeren Schutzmäntel im Einsatz. Mit Hilfe der Rückführung kann die sonst sehr träge thermische Regelung mit großer Amplitude zu einer schnelleren Regelung mit sehr viel kleinerer Amplitude optimiert werden.

Ein Maß für die Regelschwingungen der Temperaturdifferenz zwischen Kern und Mantel $T_K - T_M$ ist die Schwankung der Thermospannung U_{DTS} (s. Gleichung (10)) während des Regelvorgangs. Die Regelschwankungen sind kleiner als $0,01 \mu V$. Daraus berechnet sich eine maximale Temperaturdifferenz ΔT_{KM} zwischen Kern und Mantel zu:

$$(31) \quad \Delta T_{KM} = \frac{0,01 \mu V}{336 \mu V/K} = 3 \cdot 10^{-5} K$$

Da das Rauschen des ersten Verstärkers in der Größenordnung von $0,005 \mu V$ liegt, kann weder die Amplitude noch die Periode der Regelschwingungen genauer bestimmt werden. Von Interesse ist der Einfluß dieser Schwankungen

1) Der Regler wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. F. Dittrich von dem Institut für Regelungstechnik der Universität Erlangen-Nürnberg entworfen und dort an einem Analogrechner für die Regelstrecke optimiert. Hier sei Herrn Dittrich besonders für seine freundliche Hilfe gedankt.

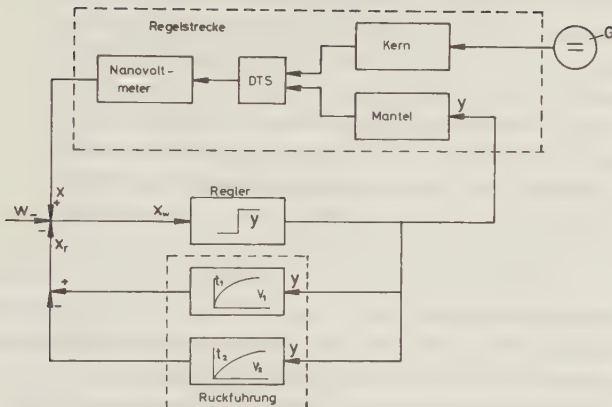


Abb. 8 : Blockschaltbild des adiabatischen Reglers mit Regelstrecke (Kalorimeter) und Rückführung (RC-Glieder);

DTS : Differenzthermosäule
 G : Gleichstromquelle zur Kernheizung
 w : Sollwert x : Regelgröße
 x_r : Rückführung x_w : Eingangsgröße
 y : Stellgröße
 t_1, t_2 : Zeitkonstante der Rückführung
 V_1, V_2 : Verstärkungsfaktoren .

auf die Adiabasie. Bei einer Wärmeflußkonstante von $28,2 \cdot 10^{-3} \text{ W/K}$ ergibt sich ein maximaler Fehler δL_R durch Wärmestrom aufgrund der Regelabweichungen zu:

$$(32) \quad \delta L_R = \int_{KM} 28,2 \cdot 10^{-3} \text{ W/K} = 8,5 \cdot 10^{-7} \text{ W} .$$

Bei Messungen der spezifischen Wärme von Proben ohne thermische Übergänge spielt die Zeitkonstante der Regelstrecke, das entspricht der Halbwertszeit einer

Temperaturdifferenz zwischen Kern und Mantel, keine Rolle. Sollen schnelle Änderungen der Enthalpie einer Probe gemessen werden, muß die Zeitkonstante berücksichtigt werden. Die Halbwertszeit beträgt für dieses System 50 - 150 s (je nach Probe). Ein Prozess von 100 - 300 s Dauer wäre damit schon als schnelle Änderung zu bezeichnen. Wie gut der adiabatische Mantel einer Änderung der Aufheizgeschwindigkeit des Kerns folgen kann, hängt auch von der Größe dieser Änderung ab.

Bei der Denaturierung von Protein-Wasser-Mischungen (s. Abschnitt 3.4) bewirkt die Denaturierungsenthalpie bei konstanter Heizleistung eine solche Änderung in der Aufheizgeschwindigkeit. Die Denaturierung geschieht in einem Temperaturintervall von etwa 10 K. Das entspricht bei den gewählten Aufheizgeschwindigkeiten etwa einer Stunde Dauer.

Die Temperaturdifferenzen zwischen Kalorimeterkern und adiabatischem Mantel werden während der Messungen registriert. Die Abweichungen von der Bedingung (10), $U_{DTS} = 0$, sind ein Maß für die Trägheit des adiabatischen Mantels und für den daraus resultierenden Fehler durch Wärmestrom. Während die Regelabweichungen bei Proben ohne thermische Übergänge etwa $\pm 0,01 \mu V$ betragen, ergaben sich bei der Denaturierung einer Hämoglobin-Wasser-Mischung mit einem Massengehalt des Proteins von etwa 0,4 maximale Regelabweichungen von $0,035 \mu V$. Der maximale Fehler in der Leistung δL_{RD} durch Wärmestrom beträgt damit während der Denaturierung:

$$(33) \quad \delta L_{RD} = \frac{0,035 \mu V}{336 \mu V/K} \cdot 28,2 \cdot 10^{-3} \text{ W/K} = 28 \cdot 10^{-7} \text{ W}.$$

Der Fehler in der Temperaturangabe ΔT_{RD} beträgt bei solch einem Denaturierungsvorgang:

$$(34) \quad \Delta T_{RD} = \frac{0,035 \mu V}{336 \mu V/K} = 10^{-4} K.$$

2.5.5 Korrektur der Messungen bei abgeschlossenen Glasröhrchen

Bei der Messung flüssiger Proben muß prinzipiell die Verdampfung mitberücksichtigt werden. In diesem Kalorimeter werden nur luftdicht verschlossene Proben gemessen. Im Anhang 5.1 werden mit Hilfe der Zustandsgrößen S und V eines geeignet definierten Systems (Glas, Flüssigkeit und Dampf) Korrekturen für die gemessene spezifische Wärme in Abhängigkeit von der Temperatur berechnet, die es erlauben, die tatsächliche spezifische Wärme der Flüssigkeit bei Atmosphärendruck zu berechnen.

Die thermodynamischen Korrekturen lassen sich in zwei Korrekturen zusammenfassen. Die eine Korrektur erlaubt unter Berücksichtigung der Koexistenzbedingung die Umrechnung der gemessenen spezifischen Wärme in die isobare spezifische Wärme bei dem der Temperatur entsprechenden Dampfdruck. Die zweite Korrektur ermöglicht die Umrechnung auf die spezifische Wärme bei Atmosphärendruck. Tabelle 2 gibt die Korrekturen in Abhängigkeit von der Temperatur an. Die Werte gelten für Wasser, das unter den Bedingungen eingeschlossen wird, die im Anhang 5.1 beschrieben sind. Wie aus Tabelle 2 zu ersehen ist, ist der Einfluß dieser Korrekturen auf die gemessene spezifische Wärme kleiner als der Fehler der Messungen selbst (s. Abschnitt 2.6). Daher wurde

bei der Berechnung der Meßwerte auf die Korrekturwerte verzichtet.

Tabelle 2 : Korrekturwerte für die gemessene spezifische Wärme von Wasser; die Temperaturwerte sind in $^{\circ}\text{C}$ und die Korrekturwerte in der Einheit $10^{-3} \text{ J/g}\cdot\text{K}$ angegeben.

Temperatur	10	20	30	40	50	60	70	80
1. Korrektur	-0,75	-0,71	-0,68	-0,62	-0,50	-0,32	-0,06	+0,32
2. Korrektur	-0,38	-0,30	-0,24	-0,18	-0,11	-0,01	+0,13	+0,34
zusammen	-1,13	-1,01	-0,92	-0,80	-0,61	-0,33	+0,07	+0,66

2.5.6 Korrektur des Luftauftriebs

Zur Wägung der Probenmassen dient eine Balkenwaage <14>. Die Masse der Probe sei m , die Anzeige der Waage M . In Vakuum ist die Waage im Gleichgewicht, wenn gilt:

$$(35) \quad m = M \quad .$$

In Luft, so werden die Messungen durchgeführt, gilt bei Gleichgewicht:

$$(36) \quad m - m \cdot \varrho_L / \varrho_{\text{H}_2\text{O}} = M - M \cdot \varrho_L / \varrho_W$$

- ϱ_L : Dichte von Luft unter Normalbedingungen
- $\varrho_{\text{H}_2\text{O}}$: Dichte von Wasser
- ϱ_W : Dichte der Gewichte der Waage .

Daraus ergibt sich:

$$(37) \quad m = M \left(\frac{\rho_W - \rho_L}{\rho_{H_2O} - \rho_L} - \frac{\rho_{H_2O}}{\rho_W} \right) .$$

Die Klammer in Gleichung (37) sei als A_4^{-1} definiert.
Mit Gleichung (11) gilt:

$$(38) \quad c_P = \left(L \frac{\Delta t}{\Delta T} - C_P^1 - C_P^G \right) / (M \cdot A_4^{-1})$$

oder

$$c_P = \left(L \frac{\Delta t}{\Delta T} - C_P^1 - C_P^G \right) / M + (A_4 - 1) \left(L \frac{\Delta t}{\Delta T} - C_P^1 - C_P^G \right) / M .$$

Unter Vernachlässigung Fehler zweiter Ordnung ergibt sich:

$$(39) \quad c_P = \left(L \frac{\Delta t}{\Delta T} - C_P^1 - C_P^G \right) / M + (A_4 - 1) c_P .$$

$(A_4 - 1)$ gibt bereits den systematischen relativen Fehler an, wenn der Luftauftrieb bei der Wägung nicht berücksichtigt wird. Für Wasser als Probe und Messing als Gewichtssatz gilt:

$$(40) \quad (A_4 - 1) = -1,06 \cdot 10^{-3} .$$

Werden die Wasserproben unter Dampfdruck abgeschlossen, so ist die Dampfblase ebenfalls zu berücksichtigen. Hier sei angenommen, daß die Dampfblase bei der Wägung 1/5 des Volumens des flüssigen Wassers ausmacht. Die Dichte ρ_D des Dampfes bei etwa 25 °C läßt sich mit Hilfe des idealen Gasgesetzes über den Dampfdruck abschätzen:

$$(41) \quad V_D / m_D = \frac{R \text{ Mol } T}{18 \text{ g } P} = \frac{8,14 \text{ J } 298 \text{ K}}{18 \text{ g } 9,81 \cdot 10^{-2} \text{ J/cm}^3} = 4,6 \cdot 10^4 \text{ cm}^3/\text{g}$$

R : Gaskonstante
V_D : Volumen des Dampfes
m_D : Masse des Dampfes
P : Dampfdruck bei hier 25 °C .

Die Dichte des Wasserdampfes hat den reziproken Wert:

$$(42) \quad \rho_D = (V_D/m_D)^{-1} = 2 \cdot 10^{-5} \text{ g/cm}^3.$$

Die Dichte des Wasserdampfes ist bei dieser Temperatur viel kleiner als die Dichte der Luft von etwa $1,2 \cdot 10^{-3} \text{ g/cm}^3$. Unter Vernachlässigung von Fehlern zweiter Ordnung kann die Wasserdampfblase als "Vakuum" mitberücksichtigt werden. Aus (36) ergibt sich:

$$m = \frac{6}{5} m \cdot \rho_L / \rho_{H_2O} = M - M \cdot \rho_L / \rho_W.$$

Aus (40) ergibt sich schließlich:

$$(43) \quad (A_4' - 1) = \left(\frac{\rho_W}{\rho_{H_2O}} \frac{\rho_{H_2O} - \rho_L^{6/5}}{\rho_W - \rho_L} - 1 \right) = -1,3 \cdot 10^{-3}.$$

2.5.7 Korrektur der Luftverdrängung

Das Kalorimeter ist während der Messung luftgefüllt. Bei der Bestimmung der Leerkapazität wird die Wärmekapazität der Luft mit gemessen. Durch das Einführen einer Probe wird ein Teil der Luft verdrängt. Daher ist Gleichung (11) zu erweitern um die Wärmekapazität C_P^L der verdrängten Luft:

$$(44) \quad c_P = \left(L \frac{\Delta t}{\Delta T} - C_P^1 - C_P^G + C_P^L \right) / m.$$

Bei einer unter Dampfdruck abgeschlossenen Wasserprobe mit kleiner Dampfblase wird durch die Blase zusätzlich Luft verdrängt. Hier sei angenommen, daß für das gesamte verdrängte Luftvolumen V_L gelte:

$$(45) \quad V_L = \frac{6}{5} \frac{m_{H_2O}}{\rho_{H_2O}}.$$

Die Wärmekapazität der Luft ergibt sich damit zu:

$$(46) \quad c_P^L = c_P^L \varrho_L \frac{6}{5} \frac{m_{H_2O}}{\varrho_{H_2O}} \quad .$$

Gleichung (46) in (44) eingesetzt führt zu:

$$(47) \quad c_P = \left(L \frac{1}{\varrho_L T} - c_P^L - c_P^G \right) / m + c_P^L \frac{6}{5} \frac{\varrho_L}{\varrho_{H_2O}} \quad .$$

Mit den Werten :

$$\begin{aligned} c_P^L &= 1,04 \text{ J/g K} , \\ \varrho_L &= 1,2 \cdot 10^{-3} \text{ g/cm}^3 \quad \text{und} \\ \varrho_{H_2O} &= 1 \text{ g/cm}^3 \end{aligned}$$

ergibt sich ohne Berücksichtigung einer Temperaturabhängigkeit für den systematischen Fehler δ_{Lc_P} durch die Luftverdrängung:

$$(48) \quad \delta_{Lc_P} = + 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ J/g} \cdot \text{K} \quad .$$

2.6 Fehler der gemessenen spezifischen Wärmen und der Denaturierungsenthalpien

In den vorausgegangenen Abschnitten wurde eine Vielfalt von Fehlern besprochen, die die Messungen mit dem Kalorimeter beeinflusst. Ein Teil der Fehler ist statistisch, ein Teil ist systematisch. ¹⁾ Von den systema-

1) In der letzten Spalte der Tabelle gelten die Abkürzungen: stat. für statistisch, sys. für systematisch, mul. für Fehler einer multiplikativen Größe und add. für Fehler einer additiven Größe. Diese Bezeichnungen beziehen sich auf die Art der Fehler bezüglich der Meßgröße, der spezifischen Wärme einer Probe.

tischen Fehlern wiederum können einige rechnerisch korrigiert werden. In der folgenden Tabelle werden alle besprochenen Fehler noch einmal aufgelistet.

Tabelle 3 : Zusammenstellung der besprochenen Fehler für die gemessene spezifische Wärme einer Probe

	Ab- schnitt	Glei- chung	Fehler	Bemerkung
1.) Temperatur- messung	2.4.1	(13)	$\frac{\int_T c_p}{c_p} = 2 \cdot 10^{-6}$	sys., mul.
2.) Temperatur- anstieg	2.4.1	(14)	$\frac{\delta \Delta T}{\Delta T} = 2 \cdot 10^{-3}$	sys., mul.
3.) Zeit- messung	2.4.1	(15)	$\frac{\delta \Delta t}{\Delta t} = 10^{-5}$	stat., mul.
4.) Leistung	2.4.2	(17)	$\frac{\delta L}{L} = 2 \cdot 10^{-5}$	stat., mul.
5.) Masse	2.4.3	(18)	$\frac{\delta m}{m} = 1,8 \cdot 10^{-4}$	stat., mul.
6.) Leer- kapazität	2.4.5	(21)	$\delta C_p^L = 4,4 \cdot 10^{-3} \text{ J/K}$	add.
7.) Wärmekapa- zität des Glasröhr- chens	2.4.6	(22)	$\delta C_p^G = 2,6 \cdot 10^{-3} \text{ J/K}$	add.
8.) Nullpunkt	2.5.1	(26)	$\frac{\delta \Delta T_0}{\Delta T_0} = 3 \cdot 10^{-5}$	stat., mul.
9.) Nullpunkts- drift	2.5.1	(27)	$\delta L_D = 5 \cdot 10^{-5} \text{ W}$	sys., add., korrigiert
10.) Abweichung von linea- rer Korrek- tur	2.5.1	(28)	$\delta L_{nl} = 3 \cdot 10^{-7} \text{ W}$	sys., add.

zu Tabelle 3 :

	Ab- schnitt	Glei- chung	Fehler	Bemerkung
11.) Regelung	2.5.4	(32)	$\delta L_R = 8,5 \cdot 10^{-7} W$	stat., add.
12.) Fehler in d. Denaturie- rungsenthalpie	2.5.4	(33)	$\delta L_{RD} = 28 \cdot 10^{-7} W$	sys., add.
13.) Temperatur- angabe bei Denaturierung	2.5.4	(34)	$\delta T_{RD} = 10^{-6} K$	sys.
14.) thermodyna- mische Kor- rekturen	2.5.5 Tabelle 2		$10^\circ C: -1,13 \cdot 10^{-3} J/g K$ $40^\circ C: -0,80 \cdot 10^{-3} J/g K$ $80^\circ C: +0,66 \cdot 10^{-3} J/g K$	sys., add., Korrektur möglich
15.) Luftauf- trieb	2.5.6	(40) bzw. (43)	$-1,06 \cdot 10^{-3}$ $-1,3 \cdot 10^{-3}$	sys., mul., Korrektur möglich
16.) Luftver- drängung	2.5.7	(48)	$\delta L_{CP} = 1,5 \cdot 10^{-3} J/g K$	sys., add., Korrektur möglich
17.) 14.) bis 16.) zusam- men	5.1		$10^\circ C: -5,09 \cdot 10^{-3} J/g K$ $40^\circ C: -4,76 \cdot 10^{-3} J/g K$ $80^\circ C: -3,30 \cdot 10^{-3} J/g K$	
18.) Massenge- halt	2.4.4	(20)	$\delta W = 10^{-4}$	stat.

Für eine Wasserprobe von 0,5 g Masse, die in einem Glasröhrchen von 1 g Masse eingeschlossen ist und für eine Aufheizgeschwindigkeit von 10 K/h etwa 14 mW Leistung benötigt, kann ein Gesamtfehler δc_p nach der Tabelle 3

abgeschätzt werden:

$$(49) \quad \delta c_p = 14 \cdot 10^{-3} \text{ J/g} \cdot \text{K} \quad .$$

Dem entspricht ein relativer Fehler von etwa:

$$(50) \quad \delta c_p / c_p = 0,33 \% \quad .$$

Da die Abschätzung nach den Punkten 1.) bis 11.) aus der Tabelle 3 einen etwa dreifach größeren Fehler ergibt, als die möglichen Korrekturen von Punkt 17.) der Tabelle zusammen ausmachen, wurde auf diese Korrekturen bei der Auswertung der Meßergebnisse verzichtet. Wie der Vergleich der eigenen Messungen von Wasser mit Literaturwerten (s. Abbildung 7) zeigt, stimmt das Ergebnis der Fehlerabschätzung nach Gleichung (49) gut mit den tatsächlichen Unterschieden zwischen den Meßergebnissen und den Literaturwerten überein.

Der relative Fehler von 0,33 % nach Gleichung (50) muß als mittlerer Fehler der Einzelmeßwerte betrachtet werden. Die ausgeglichenen Werte aus verschiedenen Meßwerten und auch Meßreihen (bis zu 1000 Meßwerte) können damit kleinere Unsicherheiten besitzen. Allerdings kann hier nicht die bekannte Statistik angewendet werden, da der größte Teil des Gesamtfehlers auf den in Punkt 2.) der Tabelle fällt. Dieser Fehler ist weniger ein statistischer als ein systematischer Fehler.

Ein weiterer Fehler, der nicht quantitativ abgeschätzt werden kann, hat seine Ursache in der Kondensation und Adsorption von Luftfeuchtigkeit im luftgefüllten Kalorimeter. Nachträglich kann gesagt werden, daß der Einfluß kleiner als 0,33 % der Meßwerte sein muß.

3 Meßergebnisse

Mit dem beschriebenen Kalorimeter wurden die spezifischen Wärmen von Hämoglobin-Wasser-Mischungen bei verschiedenen Massengehalten des Hämoglobins in nativem und denaturiertem Zustand gemessen.

3.1 Herstellung der Hämoglobin-Wasser-Mischungen

Die Hämoglobin-Stammlösung mit einem Massengehalt des Proteins von etwa 0,4 wurde aus einer etwa 0,6 prozentigen Natrium-Citrat-Rinderblut-Lösung hergestellt. Die Methode stützt sich auf Arbeiten von D.L. DRABKIN [5], J.A. HINSON [8] und R.L. BERGER [1] und wurde im Rahmen von Doktorarbeiten am Institut für Radiologie der Universität Erlangen-Nürnberg von G. MENGES [11] und N. TRETTER [21] weiterentwickelt.¹⁾ Die Stammlösung wurde auf eine Temperatur von -34°C eingefroren. Zur Herstellung von Proben mit geringerem Massengehalt wurde ein kleiner Teil der Stammlösung aufgetaut, verdünnt, in Ampullen gefüllt und sofort verschlossen.

Bei der Herstellung solch hoher Massengehalte des Proteins in der Mischung ($w = 0,4$) geht ein Teil des Oxyhämoglobins in Methämoglobin über. Während die frisch verdünnte Hämoglobinlösung etwa 1,5 % Methämoglobin enthielt (s. Abbildung 10), stieg dieser Anteil während des Konzentrierungsvorganges, der

1) Hier sei Herrn H.W. Schmid, cand. med., für die Herstellung der Hämoglobinstammlösung besonders gedankt.

Dialyse „16“, auf etwa 8 % an. Durch Gefrieren, Auftauen und Rückverdünnen entstanden bis zu 30 % Methämoglobin. Die Bestimmung des Methämoglobinanteils wurde nach W. PILZ [17] mit Hilfe einer spezifischen Absorptionslinie bei einer Wellenlänge von 630 nm durchgeführt.

Hämoglobin geht spontan in Methämoglobin über. Isoliert man Hämoglobin aus den natürlichen Blutzellen, so werden die Methämoglobinreduktasen ebenfalls entfernt. Es läßt sich damit nicht vermeiden, daß der Methämoglobinanteil mit der Zeit über den physiologischen Gleichgewichtswert von etwa 1 % steigt (s. dazu D. MacN. SURGENOR [19] S. 799 ff). Wie PILZ [17] zeigt, steigt aber auch der Methämoglobinanteil intakter Blutzellen, wenn sie in einer Suspension der freien Atmosphäre ausgesetzt werden.

Bei der Durchführung der kalorischen Messungen war darauf zu achten, daß die Hämoglobin-Wasser-Mischungen reine Zwei-Komponentensysteme waren. Aus diesem Grunde mußte zunächst auf einen zusätzlich hinzugefügten Puffer verzichtet werden. Da bekannt ist, daß die Struktur und auch die Denaturierungsenthalpie eines Proteins stark von dem pH-Wert abhängt, wurde der pH-Wert bei verschiedenen Massengehalten des Proteins in dem Bereich $0 \leq w \leq 0,5$ gemessen. Der pH-Wert betrug im Mittel 7,2 und zeigte keine Abhängigkeit vom Massenanteil.

Abbildung 9 zeigt ein Spektrum einer auf etwa 0,01 % verdünnten Hämoglobinlösung, wie sie für Proben kalorischer Messungen verwendet wird.

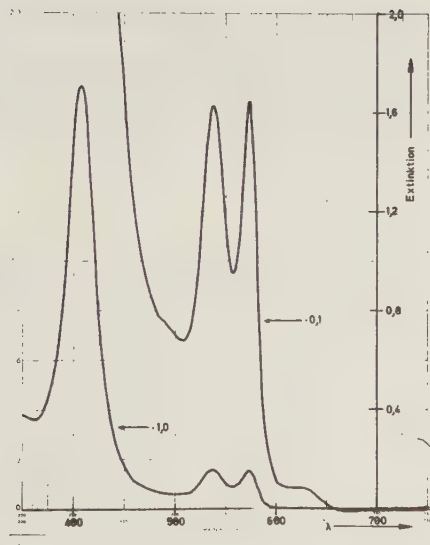


Abb. 9 : Extinktionsspektrum einer Hämoglobinlösung im sichtbaren Bereich in Abhängigkeit von der Wellenlänge λ in nm; es wurden zwei Spektren bei unterschiedlicher Verstärkung aufgenommen, die Zahl bei den Kurven gibt den Faktor an, mit dem die Ordinatenwerte multipliziert werden müssen; für diese Hämoglobinlösung, die aus der oben beschriebenen Stammlösung gewonnen wurde, betrug der Methämoglobinanteil etwa 20 % ; die Spektren wurden mit einem Spektralphotometer aufgenommen <18> .

Abbildung 10 zeigt ein Spektrum einer frisch zubereiteten, auf etwa 0,01 % verdünnten Hämoglobinlösung. Das Spektrum der Hämoglobinlösung, die nicht dialysiert, gefriergetrocknet, gelagert und wieder aufgetaut wurde, zeigt bei einer Wellenlänge von 630 nm eine deutlich geringere Extinktion als das Spektrum der Abbildung 9 .

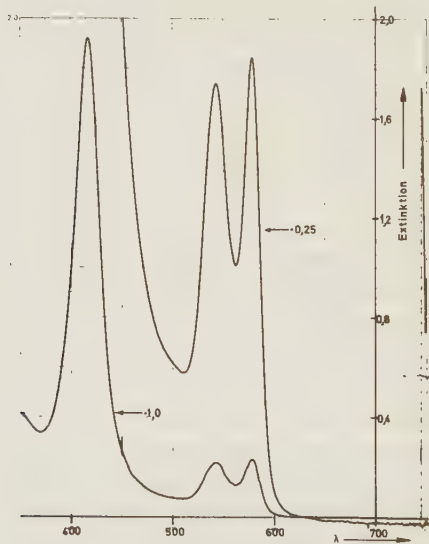


Abb. 10 : Extinktionsspektrum einer frisch zubereiteten Hämoglobinlösung, die nicht dialysiert wurde, in Abhängigkeit von der Wellenlänge λ in nm ; für diese Hämoglobinlösung wurde ein Methämoglobinanteil von 1,5 % ermittelt .

3.2 Die spezifischen Wärmen von Hämoglobin-Wasser-Mischungen

Da die Hämoglobin-Wasser-Mischungen nicht entgast wurden, um nicht das Gleichgewicht des Hämoglobins mit dem gelösten Luftsauerstoff zu stören, mußte als Vergleichsmessung das Wasser ebenfalls nicht entgast gemessen werden.

Abbildung 11 zeigt die gemessene spezifische Wärme für nicht entgastes Wasser und die nach der Literatur [10] wahrscheinlichste spezifische Wärme von Wasser in Abhängigkeit von der Temperatur.

In Abbildung 12 ist eine exemplarische Messung der spezifischen Wärme einer Hämoglobin-Wasser-Mischung mit einem Massengehalt des Hämoglobins von 0,1912 in Abhängigkeit von der Temperatur dargestellt. Die gestrichelte Kurve über den Meßpunkten gibt den Verlauf der spezifischen Wärme derselben Mischung nach thermischer Denaturierung wieder.

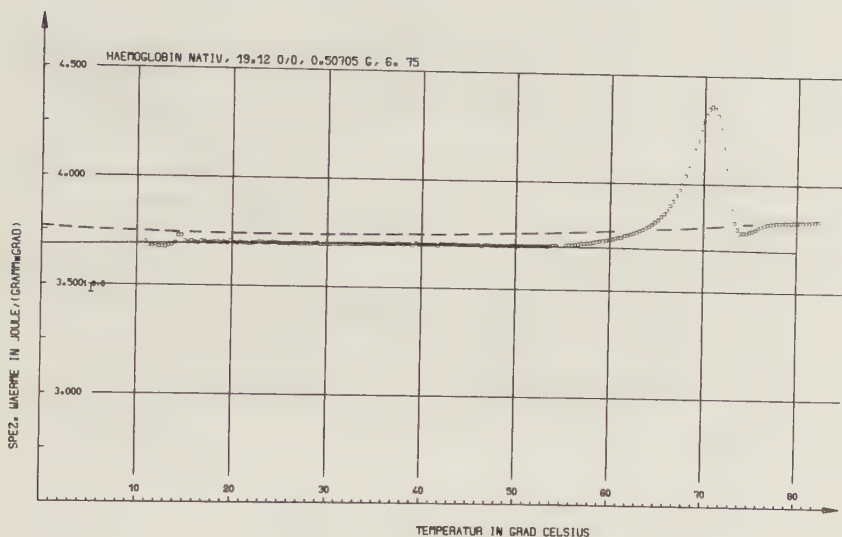


Abb. 12 : Spezifische Wärme einer Hämoglobin-Wasser-Mischung mit einem Massengehalt von 0,1912 ; die durchgezogene Kurve ergibt sich durch Ausgleichung der Meßwerte bis zu einer Temperatur von 50 °C ; die gestrichelte Kurve ergibt sich aus den Werten der spezifischen Wärme der thermisch denaturierten Mischung.

In Abbildung 13 sind mit einer dritten Koordinate, dem Massengehalt w des Hämoglobins in der Mischung einige Messungen der spezifische Wärme von Hämoglobin-Wasser-Mischungen in Abhängigkeit von der Temperatur dargestellt.

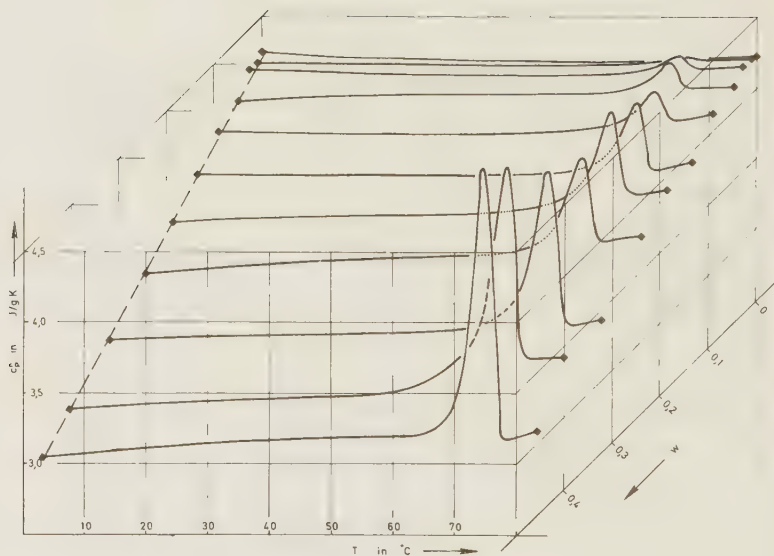


Abb. 13 : Spezifische Wärme c_p^m nativer Hämoglobin-Wasser-Mischungen in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Massengehalt des Proteins; die Werte bei 0 °C und 80 °C sind durch das Zeichen ◆ dargestellt; die gestrichelte Linie ergibt sich durch einen Schnitt der Gesamtheit aller Meßwerte mit der Fläche konstanter Temperatur $T = 0$ °C , ein analoger Schnitt für $T = 25$ °C ist in Abbildung 15 dargestellt.

In dem Temperaturbereich, in dem das Protein zu denaturieren beginnt, etwa ab 50°C , ist keine spezifische Wärme definiert. Die Berechnung der Ausgleichskurven wurde deshalb nur bis zu einer Temperatur von 50°C durchgeführt. Ab dieser Temperatur können die Meßwerte zur Integration einer Denaturierungsenthalpie herangezogen werden (s. Abschnitt 3.4).

Nach thermischer Denaturierung und erneutem Abkühlen der Proben auf eine Temperatur von etwa 5°C , wurden dieselben Proben noch einmal oder wiederholt gemessen. In Abbildung 14 ist eine Anzahl dieser Messungen der spezifischen Wärmen von Hämoglobin-Wasser-Mischungen mit Hämoglobin im denaturierten Zustand in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Massengehalt aufgetragen.

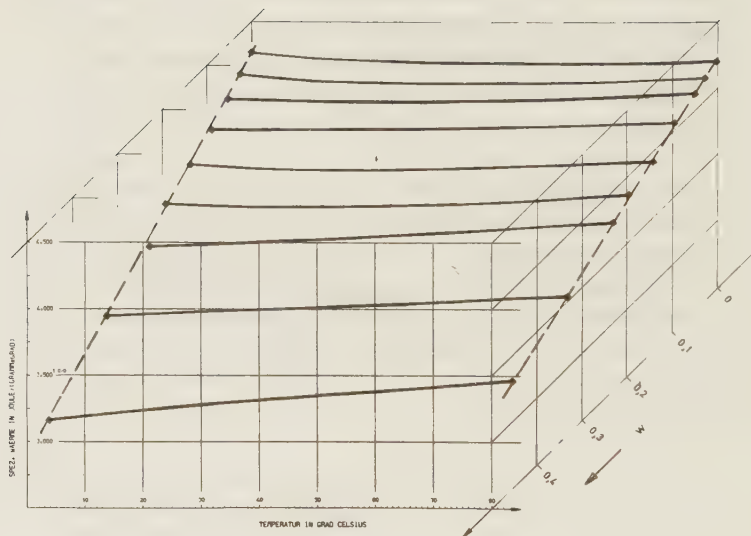


Abb. 14 : Spezifische Wärme c_p^d denaturierter Hämoglobin-Wasser-Mischungen in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Massengehalt des Proteins; die Werte bei 0 °C und 80 °C sind durch das Zeichen $\blacklozenge$ dargestellt; die gestrichelten Linien ergeben sich durch Schnitte der Gesamtheit aller Meßwerte mit den Flächen konstanter Temperatur mit $T = 0$ °C und $T = 80$ °C ; ein analoger Schnitt für eine Temperatur von 25 °C ist in Abbildung 15 als gestrichelte Linie eingezeichnet.

3.3 Die partiellen spezifischen Wärmen für Hämoglobin-Wasser-Mischungen

Zur Berechnung der partiellen spezifischen Wärmen wird die Gesamtheit aller Meßwerte der spezifischen Wärme von Hämoglobin-Wasser-Mischungen durch Flächen konstanter Temperatur geschnitten. Die Schnittlinien ergeben die spezifischen Wärmen der Mischungen bei bestimmten Temperaturen in Abhängigkeit von dem Massengehalt w des Proteins (in den Abbildungen sind diese Schnittlinien exemplarisch für eine bzw. zwei Temperaturen eingezeichnet). Abbildung 15 zeigt die Auftragung solch eines Schnittes für natives Hämoglobin bei einer Temperatur von 25°C . Nach der Theorie der binären Mischungen [9] erhält man die partiellen spezifischen Wärmen über die Tangenten an der Kurve $c_P^n = c_P^n(w, T)$. Die Ordinatenwerte der Schnittpunkte der Tangente (an die Kurve $c_P^n(w, T^+)$ an der Stelle w') mit den Achsen (an den Stellen $w = 0$ bzw. $w = 1$) sind definiert als die partiellen spezifischen Wärmen der reinen Komponenten $c_1^n(w', T^+)$ bzw. $c_2^n(w', T^+)$ (entsprechend $w = 0$ bzw. $w = 1$) für den Massengehalt w' und die Temperatur T^+ .

Es gilt allgemein für die spezifische Wärme $c_P^n(w, T)$ der Mischung mit nativem Hämoglobin und für die partiellen spezifischen Wärmen von Wasser $c_1^n(w, T)$ und Hämoglobin $c_2^n(w, T)$:

$$(51) \quad c_P^n(w, T) = (1 - w) \cdot c_1^n(w, T) + w \cdot c_2^n(w, T) .$$

Wie aus der Abbildung 15 zu erkennen ist, werden die die Meßwerte ($c_P^n(w, 25^{\circ})$) in einem Bereich des Massengehaltes von 0 bis 0,5 hinreichend gut durch eine

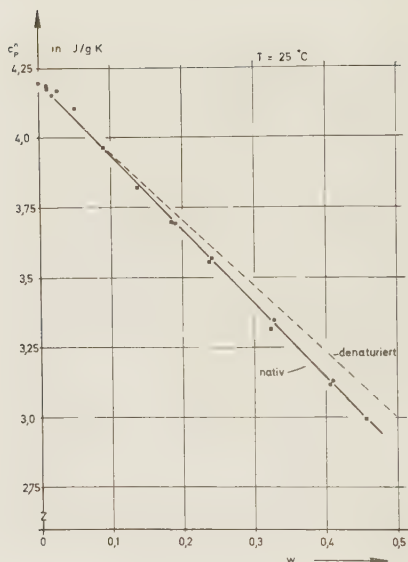


Abb. 15 : Spezifische Wärme c_p^n nativer Hämoglobin-Wasser-Mischungen in Abhängigkeit von dem Massengehalt des Proteins bei einer Temperatur von 25 °C ; die durchgezogene Linie ergibt sich durch lineare Ausgleichung der Meßwerte (■) aus 18 Meßreihen, die gestrichelte Linie entspricht einer linearen Ausgleichung der Meßwerte für denaturierte Mischungen.

Gerade approximiert. Die Gleichung der Ausgleichsgeraden lautet für Hämoglobin-Wasser-Mischungen mit nativem Hämoglobin mit $w = 0,5$ bei einer Temperatur von 25 °C :

$$(52) \quad c_p^n(w, 25^0) = (4,203 \pm 0,0029 + (-2,67 \pm 0,014) \cdot w) \text{ J/g} \cdot \text{K} \quad .$$

Die Streubreite der Meßwerte um die Ausgleichsgerade beträgt bei 25 °C $\pm 0,0136 \text{ J/g} \cdot \text{K}$, das entspricht 0,33 % bis 0,44 % des Meßwertes und stimmt mit dem oben (s. Abschnitt 2.6) abgeschätzten Fehler gut überein.

Da die Gerade c_p^n an allen Stellen w identisch ist mit ihrer Tangente, sind in dem Bereich $0 \leq w \leq 0,5$ die partiellen spezifischen Wärmen für Wasser und Hämoglobin unabhängig von w und können direkt aus der Geradengleichung berechnet werden.

Für die partiellen spezifischen Wärmen von Wasser und Hämoglobin in Hämoglobin-Wasser-Mischungen mit nativem Hämoglobin bei einer Temperatur von 25 °C ergibt sich aus den Gleichungen (51) und (52) in dem Bereich $0 \leq w \leq 0,5$:

$$\text{für Wasser:} \quad c_1^n(25^0) = (4,203 \pm 0,003) \text{ J/g} \cdot \text{K}$$

bzw. für Hämoglobin:

$$c_2^n(25^0) = (1,53 \pm 0,015) \text{ J/g} \cdot \text{K} \quad .$$

Unter denselben Voraussetzungen wurde eine Ausgleichsgerade für die spezifischen Wärmen von Hämoglobin-Wasser-Mischungen mit denaturiertem Hämoglobin bei einer Temperatur von 25 °C in Abhängigkeit von dem Massengehalt des Proteins berechnet. Die Gleichung lautet für einen Bereich $0 \leq w \leq 0,5$:

$$(53) \quad c_p^d(w, 25^0) = (4,187 \pm 0,0028 + (-2,38 \pm 0,014) \cdot w) \text{ J/g} \cdot \text{K} \quad .$$

Die Streubreite der Meßwerte um die Ausgleichsgerade beträgt bei einer Temperatur von $25^{\circ}\text{C} \pm 0,0116 \text{ J/g}\cdot\text{K}$, das entspricht 0,3 bis 0,35 % der Meßwerte.

Für die partiellen spezifischen Wärmen von Wasser und Hämoglobin in Hämoglobin-Wasser-Mischungen mit denaturiertem Hämoglobin bei einer Temperatur von 25°C ergibt sich aus den Gleichungen (51) und (53) für den Bereich $0 \leq w \leq 0,5$:

$$\text{für Wasser: } c_1^d(25^{\circ}) = (4,18 \pm 0,003) \text{ J/g}\cdot\text{K}$$

bzw. für Hämoglobin:

$$c_2^d(25^{\circ}) = (1,82 \pm 0,015) \text{ J/g}\cdot\text{K} .$$

Die angegebenen Fehler in den Geradengleichungen (52) und (53) und für die partiellen spezifischen Wärmen ergeben sich ausschließlich aus den statistischen Schwankungen der 42 (nativ) bzw. 31 (denaturiert) Einzelmessungen. Es wurden dabei keine weiteren Annahmen über die Fehler gemacht. Unter Berücksichtigung der systematischen Fehler (s. Abschnitt 2.6) sind noch etwas größere Fehler zu erwarten.

Mit Hilfe eines einfachen Rechenprogramms wurden für natives Hämoglobin die Ausgleichsgeraden in Ein-Gradschritten von 0°C bis 50°C und für denaturiertes Hämoglobin von 0°C bis 80°C berechnet. Als Ergebnis erhält man je zweimal die partiellen spezifischen Wärmen für Wasser und Hämoglobin für natives bzw. denaturiertes Hämoglobin in der Mischung. Im Anhang 5.3 finden sich die Zahlenwerte in Schritten von 5 Grad.

Abbildung 16 zeigt die partiellen spezifischen Wärmen von Wasser im Vergleich zu einer Messung der spezifischen Wärme von reinem Wasser.

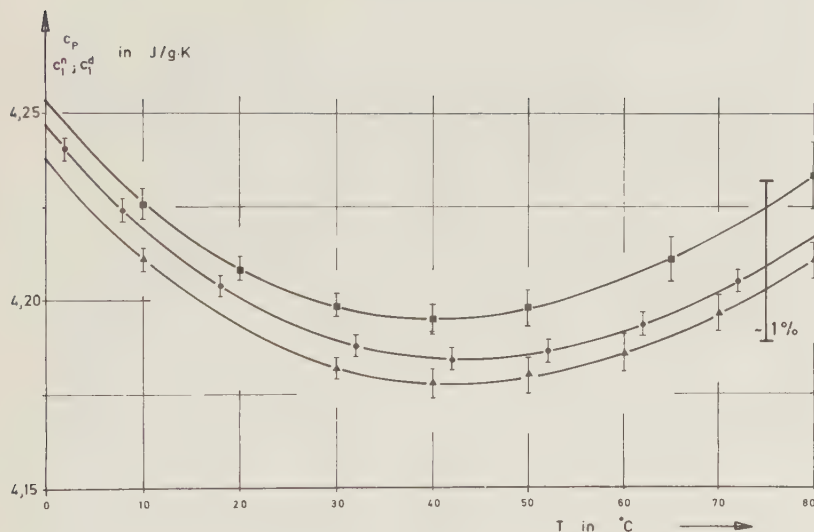


Abb. 16 : Partielle spezifische Wärmen von Wasser in Hämoglobin-Wasser-Mischungen und die spezifische Wärme von reinem Wasser:
 partielle spezifische Wärme c_p^a von Wasser in Mischungen mit nativem Hämoglobin ($\blacksquare$) (ab 50 $^{\circ}\text{C}$ Extrapolation, da Hämoglobin bei höheren Temperaturen denaturiert); partielle spezifische Wärme c_p^d von Wasser in Mischungen mit denaturiertem Hämoglobin ($\blacktriangle$); spezifische Wärme c_p von reinem Wasser ($\bullet$) (s. Abb. 11); für Temperaturen unter 10 $^{\circ}\text{C}$ sind alle drei Kurven Extrapolationen mit den Koeffizienten der entsprechenden Ausgleichsfunktionen; im rechten Teil der Abbildung ist ein vertikaler Strich eingetragen, dessen Spanne etwa einem Prozent der Meßwerte entspricht; die Fehlerbalken aller Kurven beziehen sich ausschließlich auf die erfaßbaren statistischen Fehler.

Im Rahmen des oben abgeschätzten Fehlers von 0,3 % (s. Abschnitt 2.6) unterscheiden sich die drei Kurven in Abbildung 16 nicht signifikant.

Abbildung 17 zeigt die partiellen spezifischen Wärmen von nativem und denaturiertem Hämoglobin in Mischungen mit Wasser in Abhängigkeit von der Temperatur für den Bereich $0 \leq w \leq 0,5$.

Zahlenwerte der partiellen spezifischen Wärmen finden sich im Anhang 5.3 (zur Diskussion der Ergebnisse s. Abschnitt 4.1).

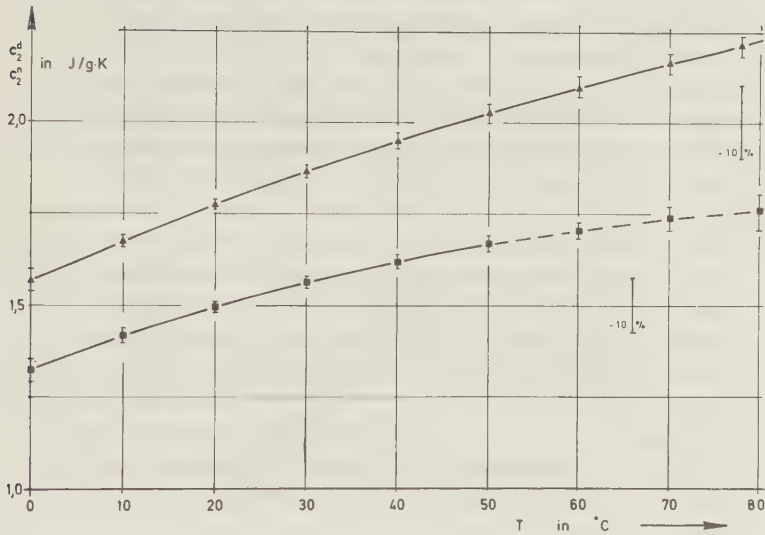


Abb. 17 : Partielle spezifische Wärmen von nativem und denaturiertem Hämoglobin in Mischungen mit Wasser:
 partielle spezifische Wärme c_p^d des nativen Hämoglobins in Mischungen mit Wasser (■) (ab 50 °C Extrapolation, da Hämoglobin bei höheren Temperaturen denaturiert); partielle spezifische Wärme des denaturierten Hämoglobins in Mischungen mit Wasser (▲); für Temperaturen unter 10 °C sind die beiden Kurven Extrapolationen mit den Koeffizienten der entsprechenden Ausgleichsfunktionen; die Fehlerbalken der Kurven beziehen sich ausschließlich auf die erfaßbaren statistischen Fehler.

3.4 Die Denaturierungsenthalpie

Die Denaturierungsenthalpie wurde aus den Werten der spezifischen Wärmen von Hämoglobin-Wasser-Mischungen mit nativem Hämoglobin gewonnen. An die c_P^n -Kurven wurde bei den Temperaturen von 56 °C und 74 °C Sekanten angelegt. Als Denaturierungsenthalpie wurde die Trapezsumme der Meßwerte in diesem Temperaturintervall abzüglich der Trapezfläche unter der Sekante berechnet.

Unter diesen Voraussetzungen würde man für Wasser ein negatives Integral erhalten, da die spezifische Wärme eine positive Krümmung in Abhängigkeit von der Temperatur besitzt und somit unterhalb der entsprechenden Sekante verläuft. Dieser negative Wert wurde aus der Messung mit reinem Wasser zu $-0,02 \text{ J/g}$ berechnet und zur Korrektur bei der Berechnung der Denaturierungsenthalpien herangezogen. Die Korrektur wirkt sich nur bei geringem Massengehalt an Hämoglobin ($w \leq 0,01$) aus.

Abbildung 18 zeigt die Auftragung der Denaturierungsenthalpien Δh bezogen auf die Masse der Mischung in Abhängigkeit von dem Massengehalt des Hämoglobins.

Die Meßwerte werden durch eine Gerade ausgeglichen. Es ergibt sich die Gleichung:

$$(54) \quad \Delta h(w) = (-0,06 \pm 0,125 + (16,1 \pm 0,54) \cdot w) \cdot \text{J/g} \quad .$$

Die Steigung der Geraden entspricht der Denaturierungsenthalpie Δh_2 bezogen auf die Masse des Hämoglobins in der Mischung. Wird für die Ausgleichung eine Ursprungsgerade angesetzt, so entspricht das der Auftragung:

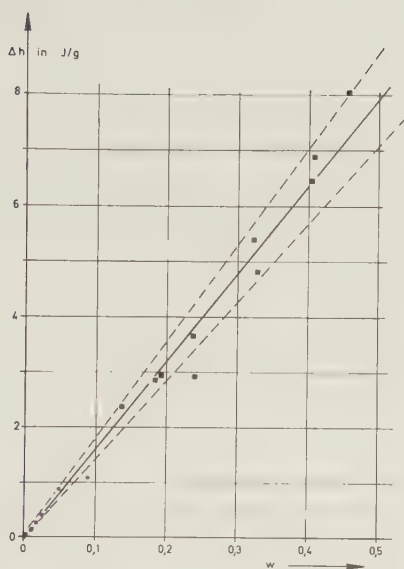


Abb. 18 : Denaturierungsenthalpie Δh bezogen auf die Masse der Mischung in Abhängigkeit des Massen-
gehaltes des Hämoglobins in der Hämoglobin-
Wasser-Mischung; die durchgezogene Gerade er-
gibt sich durch lineare Ausgleichung der Meß-
werte (■), die gestrichelten Geraden geben
die w-abhängige Schwankungsbreite der Meßwerte
wieder.

$$\Delta h_2 = \Delta h/w = \text{konstant} \quad .$$

Es ergibt sich:

$$(55) \quad \Delta h_2 = (15,9 \pm 0,5) \cdot \text{J/g} \quad .$$

Abbildung 19 zeigt die Auftragung von Δh_2 in Abhängigkeit von w mit der Streubreite der Einzelmeßwerte von $\pm 1,7 \text{ J/g}$.

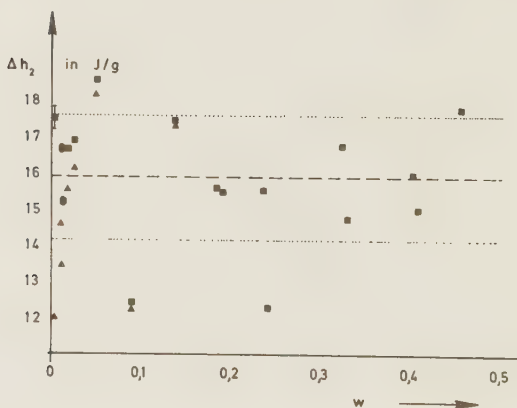


Abb. 19 : Denaturierungsenthalpie von Hämoglobin-Wasser-Mischungen bezogen auf die Masse des Hämoglobins in Abhängigkeit von dem Massengehalt des Hämoglobins:

Meßwerte ohne Berücksichtigung des negativen Anteils von reinem Wasser ($\blacktriangle$) ; Meßwerte nach der Korrektur mit diesem Anteil ($\blacksquare$) ; für kleine Werte des Massengehaltes ($w \leq 0,02$) sind Fehlerbalken nach dem statistisch erwarteten Fehler (s. Anhang 5.4) eingetragen; die gestrichelte Linie ergibt sich aus dem Mittelwert aller korrigierten Meßwerte ($\blacksquare$), die gepunkteten Linien sind dazu im Abstand der Standardabweichung der Einzelmeßwerte eingezeichnet.

Im Rahmen der Meßgenauigkeit läßt sich keine Abhängigkeit der Denaturierungsenthalpie Δh_2 von dem Massengehalt des Hämoglobins erkennen.

Im Anhang 5.4 wird mit Hilfe der bekannten Streubreite der c_p -Messungen der statistisch zu erwartende Fehler für die Denaturierungsenthalpie abgeschätzt. Die unvermutet hohe Standardabweichung der Werte der Denaturierungsenthalpie wird diskutiert.

4 Diskussion

Das Kalorimeter ist geeignet für Messungen der spezifischen Wärmen flüssiger und fester Proben in dem Temperaturbereich von 5°C bis 80°C . Die Proben-volumina betragen $0,5\text{ cm}^3$ bzw. 1 cm^3 . Mit Hilfe einer eingehenden Fehlerbetrachtung konnte gezeigt werden, daß bei den gewählten Aufheizgeschwindigkeiten der relative Fehler in der spezifischen Wärme für fast alle denkbaren Stoffe weniger als $0,5\%$ beträgt. Auch mögliche systematische Fehler erreichen diese Höhe nicht.

Messungen der spezifischen Wärme von nativen und denaturierten Rinderhämoglobin-Wasser-Mischungen zeigen in einem Bereich des Hämoglobinmassengehaltes von 0 bis $0,5$ ein Verhalten einer idealen Mischung. Die c_p -Werte in Abhängigkeit von w bei einer festen Temperatur können linear ausgeglichen werden. Die Standardabweichung der einzelnen $c_p(w, T)$ -Werte von den Ausgleichsgeraden beträgt wiederum weniger als $0,5\%$. Aus diesen Geraden berechnen sich die partiellen spezifischen Wärmen für Wasser und für Hämoglobin, sowohl für Mischungen mit nativem als auch mit denaturiertem Protein. Diese Größen erweisen sich wegen der Möglichkeit linearer Ausgleichung als unabhängig von dem Massengehalt von Hämoglobin in der Mischung in dem untersuchten Bereich mit $0 \leq w \leq 0,5$.

Es ist eine Stärke der kalorimetrischen Untersuchung von Mischungen, daß der gesamte Bereich des Massengehaltes einer Komponente von 0 bis 1 überschritten werden kann. Bei den durchgeführten Messungen setzte allerdings die Instabilität des Rinderoxyhämoglobins dem Aufkonzentrieren eine Grenze. Massengehalte von $w \geq 0,5$

konnten nicht ohne empfindliche Erhöhung des Methämoglobinanteils erreicht werden.

Eine weitere Stärke speziell der Methode eines adiabatischen Kalorimeters ist, daß ein interessierender Temperaturbereich in einer Messung überschritten werden kann. Gerade in der Temperaturabhängigkeit zeigt sich die Besonderheit der berechneten partiellen spezifischen Wärmen von Hämoglobin. Sie liegen, wie gezeigt wird (s. Abschnitt 4.1), etwa 20 % bis 80 % (je nach Temperatur und ob sich das Hämoglobin in nativem oder denaturiertem Zustand befindet) über der für reines Hämoglobin erwarteten spezifischen Wärme. Außerdem zeigen sie eine bedeutend größere Temperaturabhängigkeit, als für die spezifische Wärme eines trockenen globulären Proteins zu erwarten wäre. Ein naheliegender Bezug zu Reaktionsenthalpien scheint erst nach eingehenden Modellbetrachtungen möglich.

Zusätzlich zu den Messungen der spezifischen Wärme von Hämoglobin-Wasser-Mischungen mit nativem und denaturiertem Hämoglobin, aus denen vier partielle spezifische Wärmen in Abhängigkeit von der Temperatur berechnet werden, wird noch die Denaturierungsenthalpie des Hämoglobins bei thermischer Denaturierung bestimmt.

Rinder-Oxyhämoglobin erweist sich gegen die Prozeduren des Aufkonzentrierens, Tiefkühlens, Lagerns und Wiederauftauens als empfindlich. Messungen des Methämoglobinanteils der Mischungen ergaben Werte bis zu 30 %.

Es wird eine Aufgabe späterer Messungen sein, zu untersuchen, wie sich die beschriebenen Größen für Methämoglobin-Wasser-Mischungen von den hier angegebenen Werten unterscheiden.¹⁾

4.1 Diskussion des Verlaufes der partiellen spezifischen Wärmen in Abhängigkeit von der Temperatur

Die partiellen spezifischen Wärmen für Wasser in Hämoglobin-Wasser-Mischungen mit einem Massengehalt des Hämoglobins $w \leq 0,5$ unterscheiden sich nicht signifikant von der spezifischen Wärme reinen Wassers, unabhängig davon, ob das Protein nativ oder denaturiert ist (s. Abbildung 16). Wird zu einer Hämoglobin-Wasser-Mischung mit $0 \leq w \leq 0,5$ eine kleine Menge reinen Wassers hinzugefügt, so erscheint es, als benötigt diese bei Erwärmung dieselbe Enthalpie wie reines Wasser. Sie ist von reinem Wasser kalorisch nicht zu unterscheiden.

Bemerkenswert dagegen sind die im Vergleich zu bekannten Werten trockener Proteine (P. MILBERS [13] und H.B. BULL [4]) hohen partiellen spezifischen Wärmen des Hämoglobins sowohl in nativem als auch in denaturiertem Zustand, der relativ starke Anstieg der partiellen spezifischen Wärmen mit der Temperatur und die großen Differenzen zwischen den partiellen spezifischen Wärmen des Hämoglobins in nativem und denaturiertem Zustand (s. Abbildung 17).

1) Erste Messungen der spezifischen Wärme von Methämoglobin-Wasser-Mischungen zeigten keine signifikante Unterschiede zu den Werten für die beschriebenen Hämoglobin-Wasser-Mischungen.

Es konnte seither noch kein reines trockenes Rinder-Oxyhämoglobin isoliert werden, das nicht in erheblichem Maße in Methämoglobin übergegangen wäre (bis zu 100 %), um Messungen mit Hämoglobin-Wasser-Mischungen in dem Bereich $0,5 \leq w \leq 1$ durchzuführen. Aufgrund anderer Messungen an globulären Proteinen in nativem Zustand wäre jedoch eine spezifische Wärme bei einer Temperatur von 25°C in der Größe von 1,0 bis 1,3 J/g·K zu erwarten. Für Rinderserumalbumin (RSA) wurde von P. MILBERS [13] 1,07 J/g·K bei 25°C angegeben und für Eialbumin wurde von H.B. BULL [4] für etwa 12°C 1,18 J/g·K ermittelt. Dagegen geben die Autoren für die partiellen spezifischen Wärmen der Proteine in Mischungen mit $w \leq 0,7$ ebenfalls viel größere Werte an, MILBERS 1,605 J/g·K bei 25°C und BULL 1,65 J/g·K bei etwa 12°C .

Die partielle spezifische Wärme von nativem Hämoglobin steigt zwischen 0°C und 25°C um 16 % des Wertes bei 0°C an, zwischen 0°C und 50°C um 26 % . ¹⁾Für denaturiertes Hämoglobin ergeben sich entsprechende Anstiege von 16 bzw. 29 % . Nach MILBERS zeigt trockenes natives RSA im Bereich von 0°C bis 40°C einen Anstieg der spezifischen Wärme von 7 % , während die partielle spezifische Wärme desselben Proteins in dünnen Lösungen um 24 % ansteigt.

Es erscheint naheliegend, für diese großen partiellen spezifischen Wärmen mit ihren starken relativen Änderungen in Abhängigkeit von der Temperatur auftretende Reaktionsenthalpien verantwortlich zu machen. Eine An-

1) Für die Temperatur von 0°C wurde der Wert der partiellen spezifischen Wärme durch Extrapolation der Einzelmessungen der spezifischen Wärme der Mischungen mit den Koeffizienten der berechneten Ausgleichsfunktionen erhalten. (s. Abbildung 12 und 17 und Anhang 5.3).

nahme, die bei reinem Wasser weitgehend die hohe spezifische Wärme zu erklären vermag (s. auch D. EISENBERG [6] und C. TANFORD [20]).

Nach der Definition der partiellen spezifischen Wärme einer Komponente eines binären Gemisches ist es nicht notwendig, daß diese hypothetischen Reaktionsenthalpien alleine von der einen Komponente, hier dem Hämoglobin aufgenommen werden. Ebenso kann eine Reaktionsenthalpie in der Wechselwirkung zwischen beiden Komponenten verbraucht werden. Denkbar wäre eine kontinuierliche Abspaltung der Hydrathülle des Hämoglobins mit steigender Temperatur. Nach H.B. BULL [3] ist für die Hydrathülle von Rinderhämoglobin bei 25 °C mit einem Massenverhältnis von 0,37 g Wasser je g Hämoglobin zu rechnen. MILBERS hat den Anteil des kalorisch veränderten Wassers in RSA-Wasser-Mischungen in Abhängigkeit von der Temperatur bestimmt. Er bekam für die Massenverhältnisse folgende Werte: bei 0 °C 0,66, bei 25 °C 0,33 und bei 40 °C 0,28 g Wasser je g RSA .

Nach einer zusammenfassenden Arbeit über den physikalisch-chemischen Zustand des Wassers in der lebenden Zelle von H. PAULY [16] kann aufgrund der Ergebnisse ganz verschiedener Meßmethoden gesagt werden, daß globuläre Proteine durchschnittlich 0,3 g Wasser je g Protein in seinem Verhalten verändern. Es ist nicht ausgeschlossen, daß sich dieser Anteil des veränderten Wassers in verschiedene Hüllen oder lokalisierbare Bezirke um das Proteinmolekül aufteilt. Ebenfalls kann als erwiesen betrachtet werden, daß der Anteil des veränderten Wassers mit steigender Temperatur abnimmt, ein Prozess, der nach obiger Hypothese endotherm verläuft.

5 Anhang

5.1 Berechnung der Korrekturen für Messungen flüssiger Proben unter Dampfdruck

Vorausgesetzt sei, daß sich die reine Flüssigkeit, deren spezifische Wärme bestimmt werden soll, in einem gasfrei abgeschlossenen Glasröhrchen unter dem eigenen Dampfdruck befindet. Die Berechnung der Korrekturen wird auf Wasser als Flüssigkeit und auf die Verhältnisse (Randbedingungen) des beschriebenen Kalorimeters bezogen.

Unter obiger Voraussetzung wird die Wärmekapazität der Probe C_{Kox} bei Koexistenz von Flüssigkeit und Dampf gemessen. Unter Berücksichtigung der Luftverdrängung nach Abschnitt 2.5.7 ergibt sich aus Gleichung (6):

$$(1A) \quad C^V = C_{Kox} + C_P^I + C_P^G - C_P^L$$

C^V : Wärmekapazität des vollen Kerns, wenn die Probe unter Koexistenz gemessen wird .

Der Zusammenhang zwischen der Wärmekapazität C_{Kox} unter Koexistenzbedingung und der isobaren Wärmekapazität bei Atmosphärendruck einer Probe läßt sich berechnen aus einer Untersuchung eines Systems aus Glaswand, Flüssigkeit (hier Index 1) und Dampf (hier Index 2). Abbildung 1A stellt dieses System schematisch dar.

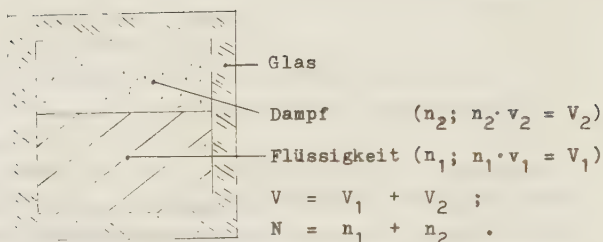


Abb. 1A : Schematische Darstellung des Systems aus Glaswand, Flüssigkeit und Dampf:

n_1 bzw. n_2 Molzahl von Wasser bzw. Dampf,
 v_1 bzw. v_2 Molvolumen von Wasser bzw. Dampf,
 N gesamte Molzahl, V gesamtes Volumen .

Die Wärmekapazität des Glases wird in dem Term C_P^G in Gleichung (1A) berücksichtigt. In Verbindung mit den beiden anderen Komponenten sind jedoch noch andere Terme zur Enthalpie zu berücksichtigen. Durch die Erhöhung des Dampfdruckes mit steigender Temperatur im Inneren des Glases wird Spannungsarbeit an dem Glas verrichtet. Durch die thermische Ausdehnung des Glases wird das gesamte Volumen V der beiden Phasen temperaturabhängig. Der Spannungsterm beträgt bei den verwendeten Glasröhrchen und einer Druckänderung von einer Atmosphäre, das entspricht bei Wasser als Flüssigkeit einer Temperaturänderung von 0°C auf 100°C , nur etwa 10^{-5} J. Verglichen mit der Wärmekapazität einer Wasserprobe von 0,5 g Masse kann der Spannungsterm vernachlässigt werden. Die Volumenausdehnung des Glases kann ebenfalls vernachlässigt werden, da sie nur etwa 1 % der Volumenausdehnung des Wassers in dem System von Abbildung 1A beträgt.

Unter diesen Voraussetzungen genügt es, ein idealisiertes System aus zwei Phasen - Flüssigkeit und Dampf - in starren Wänden zu untersuchen. Nach den Voraussetzungen gelten die Bedingungen:

$$(2A) \quad n_1 + n_2 = N = \text{konstant} \quad \text{und}$$

$$(3A) \quad n_1 \cdot v_1 + n_2 \cdot v_2 = V_1 + V_2 = \text{konstant} \quad . \quad 1)$$

Als weitere Voraussetzung für die Berechnung gelte:

$$(4A) \quad v_1 \ll v_2 \quad .$$

Für die Entropie des Systems gilt:

$$(5A) \quad dS = \left(\frac{\partial S}{\partial T} \right)_{P, n_1, n_2} dT + \left(\frac{\partial S}{\partial P} \right)_{T, n_1, n_2} dP + \left(\frac{\partial S}{\partial n_1} \right)_{P, T, n_2} dn_1 + \left(\frac{\partial S}{\partial n_2} \right)_{P, T, n_1} dn_2 .$$

Daraus folgt unter Koexistenzbedingung mit $dn_1 = -dn_2$:

$$(6A) \quad \left(\frac{dS}{dT} \right)_{\text{coex}} = n_1 \left(\frac{\partial S_1}{\partial T} \right)_P + n_2 \left(\frac{\partial S_2}{\partial T} \right)_P + \left(\frac{dP}{dT} \right)_{\text{coex}} \left[n_1 \left(\frac{\partial S_1}{\partial P} \right)_T + n_2 \left(\frac{\partial S_2}{\partial P} \right)_T \right] + \left(\frac{dn_2}{dT} \right)_{\text{coex}} \left[\left(\frac{\partial S_1}{\partial n_1} \right)_{P, T} - \left(\frac{\partial S_2}{\partial n_2} \right)_{P, T} \right] .$$

In (6A) werden folgende bekannte Beziehungen eingeführt:

$$(7A) \quad \left(\frac{\partial S_1}{\partial T} \right)_P = \frac{1}{T} C_1^{M*} ,$$

$$\left(\frac{\partial S_2}{\partial T} \right)_P = \frac{1}{T} C_2^{M*}$$

C_1^{M*} bzw. C_2^{M*} : isobare Molwärme
der Komponente 1 bzw. 2
bei Koexistenzdruck ,

eine Maxwellbeziehung:

$$(8A) \quad \left(\frac{\partial S_1}{\partial P} \right)_T = - \left(\frac{\partial v_1}{\partial T} \right)_P ; \quad \left(\frac{\partial S_2}{\partial P} \right)_T = - \left(\frac{\partial v_2}{\partial T} \right)_P ,$$

1) In diesem Abschnitt bezeichnen große Buchstaben die Größen des Systems und kleine Buchstaben mit Index molare Größen der einzelnen Phasen.

die Gleichung nach Clausius-Clapeyron:

$$(9A) \quad \left(\frac{dP}{dT} \right)_{\text{kor}} = \frac{h_v^M}{T (v_2 - v_1)} \approx \frac{h_v^M}{T \cdot v_2} \approx \frac{h_v^M \cdot P}{R \cdot T^2}$$

h_v^M : molare Verdampfungswärme ,

das ideale Gasgesetz für den Dampf:

$$(10A) \quad P \cdot v_2 = R \cdot T \quad ,$$

$$P \cdot V_2 = n_2 \cdot R \cdot T \quad ,$$

daraus ergibt sich:

$$(11A) \quad \left(\frac{\partial v_2}{\partial T} \right)_P = \frac{R}{P} \quad \text{und}$$

$$(12A) \quad \left(\frac{\partial v_2}{\partial P} \right)_T = - \frac{R \cdot T}{P^2}$$

und zuletzt:

$$(13A) \quad \left(\frac{\partial n_2 s_2}{\partial n_2} \right)_{P,T} - \left(\frac{\partial n_1 s_1}{\partial n_1} \right)_{P,T} = s_2 - s_1 = \frac{h_v^M}{T} \quad .$$

Aus (6A) ergibt sich mit (7A) bis (13A) und der Definition der Wärmekapazität bei Koexistenz:

$$(14A) \quad \frac{1}{T} C_{\text{kor}} = \left(\frac{ds}{dT} \right)_{\text{kor}} = n_1 \frac{C_1^{M*}}{T} + n_2 \frac{C_2^{M*}}{T}$$

$$+ \frac{h_v^M \cdot P}{R \cdot T^2} \left(-n_1 \left(\frac{\partial v_1}{\partial T} \right)_P - n_2 \frac{R}{P} \right) + \left(\frac{dn_2}{dT} \right)_{\text{kor}} \cdot \frac{h_v^M}{T} \quad .$$

Um die noch unbekannten Größen n_2 und $\left(\frac{dn_2}{dT} \right)_{\text{kor}}$ zu berechnen, erfolgt ein zweiter Ansatz, der die Konstanz von V ausnützt:

$$(15A) \quad 0 = dV = \left(\frac{\partial V}{\partial T} \right)_P dT + \left(\frac{\partial V}{\partial P} \right)_T dP$$

$$+ \left(\frac{\partial V}{\partial n_1} \right)_{P,T} dn_1 + \left(\frac{\partial V}{\partial n_2} \right)_{P,T} dn_2 \quad .$$

Mit (8A) bis (11A) ergibt sich aus (15A) :

$$(16A) \quad 0 = \frac{R}{P} - n_1 \left(\frac{\partial v_1}{\partial T} \right)_P + \frac{h_v^M \cdot P}{R \cdot T^2} \left[n_1 \left(\frac{\partial v_1}{\partial P} \right)_T \cdot n_2 \frac{R \cdot T}{P} \right] \\ + \left(\frac{dn_2}{dT} \right)_{\text{koex}} \left[\frac{R \cdot T}{P} - \left(\frac{\partial v_1 \cdot n_1}{\partial n_1} \right)_{T,P} \right].$$

Es gilt mit (4A) :

$$\left(\frac{\partial v_1 \cdot n_1}{\partial n_1} \right)_{T,P} = v_1 < v_2 = \frac{R \cdot T}{P}.$$

Damit ergibt sich aus (16A) unter Verwendung von

$$n_1 = N - n_2 :$$

$$(17A) \quad \left(\frac{dn_2}{dT} \right)_{\text{koex}} = n_2 \left[\frac{h_v^M}{R \cdot T^2} - \frac{1}{T} + \frac{P}{R \cdot T} \left(\frac{\partial v_1}{\partial T} \right)_P + \frac{h_v^M \cdot P^2}{R^2 \cdot T^3} \left(\frac{\partial v_1}{\partial P} \right)_T \right] \\ + N \left[\frac{P}{R \cdot T} \left(\frac{\partial v_1}{\partial T} \right)_P + \frac{h_v^M \cdot P^2}{R^2 \cdot T^3} \left(\frac{\partial v_1}{\partial P} \right)_T \right].$$

Dies ist eine lineare Differentialgleichung in $n_2 = n_2(T)$.

Die Differentialgleichung kann prinzipiell quadriert werden, die Integration ist allerdings problematisch, wenn die Temperaturabhängigkeit der Größen h_v^M , P , $\left(\frac{\partial v_1}{\partial T} \right)_P$, $\left(\frac{\partial v_1}{\partial P} \right)_T$ keinem einfachen funktionalen Zusammenhang entsprechen. Eine numerische Integration ist möglich, wenn die angegebenen Größen aus Tabellen zur Verfügung stehen.

Mit (17A) kann $\left(\frac{dn_2}{dT} \right)_{\text{koex}}$ aus (14A) eliminiert werden:

$$(18A) \quad G_{\text{koex}} = n_1 c_1^{M*} + n_2 c_2^{M*} - n_1 \frac{h_v^M \cdot P}{R \cdot T} \left(\frac{\partial v_1}{\partial T} \right)_P - n_2 \frac{h_v^M}{T} \\ - n_1 \left[\frac{h_v^M \cdot P}{R \cdot T} \left(\frac{\partial v_1}{\partial T} \right)_P + \frac{h_v^M \cdot P^2}{R^2 \cdot T^3} \left(\frac{\partial v_1}{\partial P} \right)_T \right] + n_2 \left[\frac{h_v^M}{R \cdot T} - \frac{h_v^M}{T} \right].$$

Mit den Definitionen $v_1 \alpha_1 = \left(\frac{\partial v_1}{\partial T} \right)_P$, $-v_1 \alpha_1 = \left(\frac{\partial v_1}{\partial P} \right)_T$

und $n_1 = N - n_2$ gilt:

$$(19A) \quad \frac{G_{\text{koex}}}{N} = c_1^{M*} \\ + \frac{n_2}{N} \left[c_2^{M*} - c_1^{M*} + \frac{h_v^M}{R \cdot T^2} - 2 \frac{h_v^M}{T} + 2 \frac{h_v^M \cdot P}{R \cdot T} v_1 \alpha_1 - \frac{h_v^M \cdot P^2}{R^2 \cdot T^3} v_1 \alpha_1 \right] \\ + \left[-2 \frac{h_v^M \cdot P}{R \cdot T} v_1 \alpha_1 + \frac{h_v^M \cdot P^2}{R^2 \cdot T^3} v_1 \alpha_1 \right].$$

Zur numerischen Berechnung der Korrekturen nach (19A) muß n_1/N eingesetzt werden. n_1/N wird hier für Wasser unter der Nebenbedingung $n_2 \cdot v_2 / n_1 \cdot v_1 = 1/5$ bei 30°C berechnet. Es gilt damit etwa $n_1(30^\circ \text{C})/N = 6 \cdot 10^{-6}$.

Die erste Klammer in (19A) sei mit A'_1 und die zweite Klammer mit A'_2 bezeichnet. Die Auflösung von (19A) nach c_1^{M*} ergibt:

$$(20a) \quad c_1^{M*} = \frac{C_{Kox}}{N} - \frac{n_2}{N} A'_1 - A'_2 \quad .$$

Seither wurden nicht die Molwärmen sondern die spezifischen Wärmen bezogen auf die Masse der Proben angegeben. Formal wird hier der Übergang von molaren Größen in massebezogene Größen durchgeführt:

molar	massenbezogen
c_1^{M*}	c_1^* : spezifische Wärme bei konstantem Koexistenzdruck
$\frac{C_{Kox}}{N}$	$\frac{C_{Kox}}{m}$
$n_1 ; n_2$	$m_1 ; m_2$
$A'_1 ; A'_2$	$A_1 ; A_2 \quad .$

Mit dieser Umformung gilt $m_2/m = n_2/N$. Die Größen A_1 und A_2 müssen durch Umrechnung gewonnen werden. Damit ergibt sich für die isobare spezifische Wärme einer Flüssigkeit bei Dampfdruck:

$$(21A) \quad c_1^* = \frac{C_{Kox}}{m} - \frac{m_1}{m} A_1 - A_2 \quad .$$

Da die isobare spezifische Wärme gewöhnlich für Atmosphärendruck angegeben wird, muß noch eine weitere Umrechnung folgen.

Für die Umrechnung der molaren Wärme c_1^{M*} bei Dampfdruck auf Atmosphärendruck gilt in erster Näherung:

$$n_1 = N \quad \text{und} \quad dn_1 = 0.$$

Für das System aus der nunmehr einzigen, flüssigen Phase gilt:

$$(22A) \quad dS' = N \cdot ds_1 = N \left(\frac{\partial S_1}{\partial T} \right)_P dT + N \left(\frac{\partial S_1}{\partial P} \right)_T dP.$$

Die Flüssigkeit werde isotherm vom Koexistenzdruck $P^*(T^*)$ bei der Temperatur T^* auf eine Atmosphäre P^0 komprimiert. Mit der Maxwellbeziehung (8A) ergibt sich aus (22A):

$$(23A) \quad N \int_{P^*}^{P^0} ds_1 = N \int_{P^*}^{P^0} \left(\frac{\partial S_1}{\partial P} \right)_T dP' = -N \int_{P^*}^{P^0} \left(\frac{\partial V_1}{\partial T} \right)_{P'} dP'.$$

Das letzte Integral in (23A) läßt sich nach Tabellenwerten numerisch integrieren. Für eine erste Abschätzung kann $\left(\frac{\partial V_1}{\partial T} \right)_P$ als druckunabhängig angenommen werden. Damit vereinfacht sich (23A) zu:

$$(24A) \quad N \cdot \Delta S_1 = -N \cdot V_1 \cdot \alpha_1 \cdot \Delta P = -N \cdot V_1 \cdot \alpha_1 \cdot (P^0 - P^*)$$

$$\text{oder} \quad \Delta S_1 = -V_1 \cdot \alpha_1 \cdot (P^0 - P^*).$$

Dieser Entropiedifferenz entspricht eine Differenz in der spezifischen Wärme Δc_1^M :

$$(25A) \quad \Delta c_1^M = T \cdot \frac{d \Delta S_1}{dT} \quad . \quad 1)$$

-
- 1) Die Entropiedifferenz $\Delta S_1(T^*)$ tritt bei einer Überführung der Flüssigkeit vom Koexistenzdruck P^* bei der Temperatur T^* zum Atmosphärendruck P^0 auf. Da P^* eine eindeutige Funktion von T^* ist und nach vorangegangener Annahme $V_1 \cdot \alpha_1$ nur noch von T abhängen soll, existiert für ΔS_1 nur noch eine unabhängige Variable, die hier $T = T^*$ sein soll.

Auch hier soll der Übergang von molaren Größen auf massenbezogene Größen erfolgen:

molar	massenbezogen
Δc_1^M	Δc_1
v_1	$1/\rho_1$

Damit ergibt sich aus (25A) für die Umrechnung der isobaren spezifischen Wärme bei Dampfdruck auf die isobare spezifische Wärme bei Atmosphärendruck:

$$(26A) \quad \Delta c_1 = -T \frac{d}{dT} \left[\frac{1}{\xi_1} \cdot \alpha_1 \cdot (P^0 - P^*) \right] \equiv -A_3$$

Unter der Bezeichnung A_3 findet sich diese Korrektur in der Tabelle 1A. Zusammen mit (21A) gilt für die isobare spezifische Wärme bei Atmosphärendruck:

$$(27A) \quad c_1 = c_1^* + \Delta c_1 = \frac{C_{kor}}{m} - \frac{m_2}{m} A_1 - A_2 - A_3$$

Diese drei Korrekturterme sind in der Tabelle 1A unter der Bezeichnung A_0 zusammengefaßt. Die Werte von A_0 in Abhängigkeit von der Temperatur wurden bereits in Tabelle 2 (s. Abschnitt 2.5.5) angegeben.

Zwei weitere korrigierbare Fehler, der Luftauftrieb (s. Abschnitt 2.5.6 Gleichung (42)) und die Luftverdrängung (s. Abschnitt 2.5.7 Gleichung (47)) wurden bereits besprochen. Es gilt für die spezifische Wärme mit allen Korrekturen:

$$(28A) \quad c_1 = \frac{C_{kor}}{m} - \frac{m_2}{m} A_1 - A_2 - A_3 + (A_4' - 1) c_1 + \delta_L c_1$$

Faßt man noch die letzten beiden temperaturunabhängigen Terme unter der Bezeichnung A_5 zusammen (s. Tabelle 1A), dann ergibt sich aus (28A):

$$(29A) \quad c_1 = \frac{C_{kor}}{m} + A_0 + A_5$$

Unter den genannten Bedingungen hat A_5 etwa den Wert:

$$A_5 = -3,96 \cdot 10^{-3} \text{ J/g} \cdot \text{K} \quad .$$

Es zeigt sich, daß A_5 für alle Temperaturen im Intervall von 10°C bis 90°C die temperaturabhängigen Terme überwiegt. Die Gesamtheit aller Korrekturen $A_0 + A_5$ findet sich in der letzten Spalte der Tabelle 1A. Da die Korrekturen weniger als 0,2 % der spezifischen Wärme des Wassers betragen, und für die Messungen Fehler von 0,3 bis 0,4 % zu erwarten sind, wurde bei der Berechnung der spezifischen Wärmen der Proben auf eine Korrektur verzichtet.

Tabelle 1A : Korrekturterme für die Berechnung der spezifischen Wärme
in Abhängigkeit von der Temperatur

T	m_1/m	A_1	$(m_1/m)A_1$	A_2	A_3	A_0	$A_0 + A_5$
°C	10^{-6}	J/g·K	mJ/g·K	mJ/g·K	mJ/g·K	mJ/g·K	mJ/g·K
10	5,15	146	0,749	-0,004	0,382	-1,127	-5,09
20	5,5	133	0,731	-0,017	0,297	-1,011	-4,97
30	6,0	121	0,727	-0,044	0,236	-0,919	-4,88
40	6,43	110	0,710	-0,093	0,178	-0,795	-4,76
50	6,69	101	0,676	-0,179	0,108	-0,605	-4,57
60	6,91	92,3	0,638	-0,318	0,012	-0,332	-4,29
70	7,06	84,5	0,597	-0,539	-0,130	0,072	-3,89
80	7,07	77,4	0,547	-0,871	-0,337	0,661	-3,30
90	6,94	70,9	0,492	-1,35	-0,638	1,496	-2,46

5.2 Gemessene spezifische Wärme von entgastem Wasser in Abhängigkeit von der Temperatur

Die folgende Tabelle 2A ist eine Kopie eines Computerausdrucks der CDC 3300 des Rechenzentrums der Universität Erlangen-Nürnberg. Am Kopf der Tabelle stehen die Koeffizienten, die sich durch Ausgleichung der 381 Meßwerte ergeben. Die Koeffizienten für die Leerkapazität und die spezifische Wärme von Glas, mit denen die Meßwerte in der Einheit $\text{J/g}\cdot\text{K}$ berechnet wurden, sind ebenfalls angegeben. Die Meßwerte stehen zum Vergleich mit Literaturwerten [10] neben der zugehörigen Temperatur (in $^{\circ}\text{C}$). Die angegebenen Zahlenwerte haben statt eines Dezimalkommata einen Punkt.

H2O EVAKUIERT , 0.3 K/105 S. 10. 75

FIT DER SPM(TEMP)-WERTE AUS 361 EINZELMESSWERTEN
 GERECHNET WURDE MIT DER LEERKAPAZITÄT
 FUER GLAS WURDEN DIE WERTE GENOMMEN
 H2O EVAKUIERT , 0.3 K/105 S. 10. 75

SPM(TEMP) = +1.76153 + +0.0.506059 T - -0.117 / (T)

M(TABS) = +1.53825 + +0.0.174978 T - +4.482 / (T)

SPM(CU) = +1.29725 + -0.0.006423 T - +3.650 / (T)

STAN.ABM. VOM FIT BETRAGT
 MIT AUSREISSER WAREN ES

361 MASSWERTEN
 362 MASSWERTE

ENTSPRICHT 0.176 PROZENT

GEMESSEN LITERATUR TEMP. IN C

4.2319	4.2174	0.03	4.2070	4.1919	1.00	4.1698	4.1816	20.03
4.2291	4.2138	1.00	4.2050	4.1904	11.00	4.1884	4.1810	21.00
4.2263	4.2104	2.00	4.2031	4.1899	12.00	4.1871	4.1805	22.00
4.2236	4.2074	3.00	4.2011	4.1877	13.00	4.1859	4.1801	23.00
4.2210	4.2045	4.00	4.1993	4.1866	14.00	4.1847	4.1797	24.00
4.2185	4.2019	5.00	4.1975	4.1855	15.00	4.1836	4.1793	25.00
4.2160	4.1996	6.00	4.1958	4.1846	16.00	4.1825	4.1790	26.00
4.2137	4.1974	7.00	4.1942	4.1837	17.00	4.1816	4.1787	27.00
4.2114	4.1954	8.00	4.1927	4.1829	18.00	4.1807	4.1785	28.00
4.2092	4.1936	9.00	4.1912	4.1822	19.00	4.1799	4.1783	29.00
4.2070	4.1919	10.00	4.1898	4.1816	20.00	4.1791	4.1782	30.00
4.1791	4.1782	30.00	4.1742	4.1783	4.00	4.1743	4.1804	50.00
4.1783	4.1781	31.00	4.1730	4.1786	4.00	4.1746	4.1807	51.00
4.1777	4.1780	32.00	4.1737	4.1788	4.00	4.1759	4.1811	52.00
4.1770	4.1783	33.00	4.1737	4.1789	4.00	4.1753	4.1814	53.00
4.1765	4.1779	34.00	4.1737	4.1792	4.00	4.1757	4.1817	54.00
4.1760	4.1773	35.00	4.1737	4.1794	4.00	4.1761	4.1821	55.00
4.1755	4.1780	36.00	4.1737	4.1796	4.00	4.1766	4.1825	56.00
4.1751	4.1780	37.00	4.1739	4.1799	4.00	4.1772	4.1829	57.00
4.1747	4.1781	38.00	4.1739	4.1801	4.00	4.1777	4.1833	58.00
4.1744	4.1782	39.00	4.1741	4.1801	4.00	4.1783	4.1837	59.00
4.1742	4.1783	40.00	4.1743	4.1804	50.00	4.1790	4.1841	60.00
4.1790	4.1841	60.00	4.1876	4.1893	71.00	4.1997	4.1961	80.00
4.1797	4.1846	61.00	4.1867	4.1899	72.00			
4.1804	4.1850	62.00	4.1868	4.1905	73.00			
4.1812	4.1855	63.00	4.1909	4.1912	74.00			
4.1820	4.1860	64.00	4.1920	4.1918	75.00			
4.1828	4.1865	65.00	4.1932	4.1925	76.00			
4.1837	4.1871	66.00	4.1945	4.1932	77.00			
4.1846	4.1876	67.00	4.1957	4.1939	78.00			
4.1856	4.1882	68.00	4.1970	4.1946	79.00			
4.1866	4.1887	69.00	4.1984	4.1954	80.00			
4.1876	4.1893	70.00	4.1997	4.1961				

5.3 Tabelle der partiellen spezifischen Wärmen
für Hämoglobin-Wasser-Mischungen mit einem Massen-
gehalt des Hämoglobins von $0 \leq w \leq 0,5$

T in °C	$c_1^n(T)$ in J/g·K	Fehler in J/g·K	$c_1^d(T)$ in J/g·K	Fehler in J/g·K
0	4,253	$\pm 0,006$	4,238	$\pm 0,006$
5	4,238	0,004	4,223	0,004
10	4,226	0,004	4,211	0,003
15	4,216	0,003	4,201	0,002
20	4,209	0,003	4,193	0,002
25	4,203	0,003	4,187	0,003
30	4,199	0,003	4,182	0,003
35	4,196	0,003	4,180	0,004
37	4,196	0,004	4,179	0,004
40	4,195	0,004	4,178	0,004
45	4,196	0,004	4,178	0,005
50	4,198	0,005	4,180	0,005
55	---	---	4,182	0,005
60	---	---	4,186	0,005
65	---	---	4,191	0,005
70	---	---	4,197	0,005
75	---	---	4,204	0,005
80	---	---	4,211	0,005

T in °C	$c_2^n(T)$ in J/g.K	Fehler in J/g.K	$c_2^d(T)$ in J/g.K	Fehler in J/g.K
0	1,33	+ 0,030	1,57	+ 0,031
5	1,37	0,024	1,62	0,022
10	1,42	0,018	1,68	0,015
15	1,46	0,015	1,73	0,012
20	1,50	0,014	1,78	0,012
25	1,53	0,015	1,82	0,015
30	1,56	0,016	1,87	0,017
35	1,59	0,017	1,91	0,020
37	1,60	0,018	1,93	0,021
40	1,62	0,019	1,95	0,023
45	1,65	0,023	2,00	0,025
50	1,67	0,023	2,03	0,026
55	---	---	2,06	0,027
60	---	---	2,10	0,027
65	---	---	2,13	0,027
70	---	---	2,16	0,027
75	---	---	2,19	0,027
80	---	---	2,22	0,027

Die Fehlerangaben beziehen sich nur auf die statistischen Berechnungen aus den Meßwerten der einzelnen Meßreihen. Es ist anzunehmen, daß bei der Angabe der partiellen spezifischen Wärmen von Wasser ein systematischer Fehler von 0,3 % bis 0,4 % des berechneten Wertes den statistischen Fehler überwiegt (s. Abschnitt 2.6). Die Werte für 0 °C und 5 °C ergeben sich durch Extrapolation mit den Koeffizienten der Ausgleichsrechnung.

5.4 Abschätzung des statistisch zu erwartenden Fehlers für die Denaturierungsenthalpie

Aus der Kenntnis der Streubreite der c_p -Messungen soll hier der statistisch zu erwartende Fehler für die Denaturierungsenthalpie berechnet werden. Die Integration wird gestützt von etwa 60 Meßwerten in c_p in Abständen von etwa 0,3 K. Bei einer Streubreite der Einzelmeßwerte von 0,5 % in c_p oder etwa $1,5 \cdot 10^{-2}$ J/g·K ergibt sich ein Fehler für das einzelne Trapez von etwa $4,5 \cdot 10^{-3}$ J/g. Für die gesamte Summierung wäre dann ein Fehler von $6 \cdot 10^{-4}$ J/g zu erwarten. Dieser Fehler sei doppelt angenommen, da die Summierung von Trapezen keine exakte Integration ist. Nach Abschnitt 2.5.4 ist ein maximaler Fehler durch Wärmestrom während des Denaturierungsvorganges von $28 \cdot 10^{-7}$ W für Proben mit einem Massengehalt an Hämoglobin von 0,5 anzunehmen. Bezogen auf eine Stunde Meßzeit und 0,5 g Probenmasse ergibt sich daraus ein Fehler von $2 \cdot 10^{-2}$ J/g. Dieser Fehler ist am größten bei großen Denaturierungsenthalpien und verschwindet für kleine. Er ist also annähernd proportional zu $w/0,5$. Als gesamten Fehler für die Integration erhält man damit:

$$(30A) \quad \delta \Delta h = \pm (1,2 \cdot 10^{-3} + 4 \cdot 10^{-2} w) \text{ J/g}.$$

Daraus berechnet sich der Fehler $\delta \Delta h_2$ der Denaturierungsenthalpie bezogen auf die Hämoglobinmasse:

$$(31A) \quad \delta \Delta h_2 = \delta \Delta h / w = \pm (1,2 \cdot 10^{-3} / w + 4 \cdot 10^{-2}) \text{ J/g}.$$

Der so berechnete statistische Fehler erreicht erst für w -Werte unter 10^{-3} die Größe, die für die Meßwerte in Abbildung 19 (Abschnitt 3.4) unabhängig von w zu beobachten ist. Auch eine Berücksichtigung des Fehlers in dem

Massengehalt w bringt keine Übereinstimmung.

Eine Erklärung für diese Differenzen muß einerseits in dem Zustand der Probe und andererseits in der Integration selbst gesucht werden. Es ist naheliegend, daß die Denaturierungsenthalpie eine empfindlichere Größe gegenüber Veränderungen des Proteins ist, als es die spezifische Wärme sein kann. Denaturiertes Hämoglobin benötigt im Gegensatz zu nativem keine Denaturierungsenthalpie, in der partiellen spezifischen Wärme unterscheiden sich die beiden Hämoglobine dagegen nur um 20 % . Die Unterschiede von Methämoglobin zu Oxyhämoglobin in diesen Meßgrößen sind nicht bekannt.

Ebenfalls kann die Unkenntnis der Nulllinie für die Integration ausschlaggebend sein. Das Anlegen einer Sekante ist die erste Näherung für eine Berechnung. Während des Denaturierungsvorganges wandelt sich das Hämoglobin um. Die Meßgröße c_p unterscheidet sich am Ende des Denaturierungsvorganges gegenüber dem Wert am Anfang um bis zu 10 % (für $w = 0,5$). Als Nulllinie müßte also eine Stufenfunktion oder besser eine S-Kurve herangezogen werden (s. auch Abbildung 12).

Ein weiteres Merkmal beim Denaturierungsvorgang ist das Auftreten einer exothermen Nachreaktion, die dazu führt, daß nach vollständiger Denaturierung nicht sofort der c_p -Wert für die denaturierte Hämoglobin-Wasser-Mischung erreicht wird, sondern daß die c_p -Werte zunächst kleiner sind. Bei den Nullpunktseinstellungen nach erfolgter thermischer Denaturierung konnte für eine Probe von 0,5 g Masse bei einem w -Wert von etwa 0,4 eine Wärmeentwicklung bis zu 10^{-4} W einer exothermen Reaktion

gemessen werden, die sehr langsam (in Stunden) verlief. Die Ursache hierfür ist möglicherweise in der Koagulation zu sehen.

Da nun die endotherme Denaturierung von einer exothermen, wahrscheinlich viel langsameren Reaktion überlagert wird, ist verständlich, daß eine Messung, die nur die Denaturierungsenthalpie erfassen will, mit größerer Unsicherheit behaftet ist.

Das beschriebene Kalorimeter ist konzipiert für Messungen spezifischer Wärmen von Protein-Wasser-Mischungen, um die partiellen spezifischen Wärmen dieser Zweikomponenten-Systeme berechnen zu können. Um dagegen gute Denaturierungsenthalpien bestimmen zu können, müßte man eventuell an eine andere Kalorimeterkonstruktion denken. Vor allem aber müßte man von der Voraussetzung zweikomponentiger Mischungen abgehen und mit Hilfe von Puffern die gewünschten pH-Werte einstellen.

6 Zusammenfassung

Die Konstruktion eines adiabatischen Kalorimeters wird beschrieben. Das Kalorimeter eignet sich für Messungen kleiner flüssiger und fester Proben von $0,5 \text{ cm}^3$ bis 1 cm^3 in einem Temperaturbereich von 10°C bis 80°C .

Eine ausführliche Fehlerbetrachtung ergibt, daß für eine Wasserprobe von $0,5 \text{ cm}^3$ ein relativer Fehler in der gemessenen spezifischen Wärme von $0,33\%$ zu erwarten ist. Die Meßwerte weichen von Literaturwerten ebenfalls nicht um mehr als $0,33\%$ ab.

Messungen der spezifischen Wärme von Hämoglobin-Wasser-Mischungen mit Hämoglobin in nativem und thermisch denaturiertem Zustand wurden durchgeführt. Es zeigt sich, daß die partiellen spezifischen Wärmen beider Komponenten für einen Massengehalt des Hämoglobins bis zu $0,5$ unabhängig von dem Massengehalt sind. Die partiellen spezifischen Wärmen von Wasser in diesen Mischungen sind im Rahmen der Meßfehler identisch mit der spezifischen Wärme von reinem Wasser.

Die Denaturierungsenthalpie der Mischungen bei thermischer Denaturierung wurde ebenfalls erfaßt. Die Denaturierungsenthalpie bezogen auf die Masse des Hämoglobins ist ebenfalls unabhängig von dem Massengehalt des Hämoglobins in der Mischung (für $w \leq 0,5$).

Im Folgenden sind einige exemplarische Werte zusammengestellt:

Meßwert in J/g·K für eine Temperatur von

		25 °C	und	37 °C
spezifische Wärme von Wasser	c_p	4,184		4,175
spezifische Wärme von nicht entgas-tem Wasser	c_p	4,194		4,186
partielle spezifische Wärme von Wasser in Mischungen mit nativem Hämoglobin	c_1^n	4,203		4,196
partielle spezifische Wärme von Wasser in Mischungen mit denaturiertem Hämoglobin	c_1^d	4,187		4,179
partielle spezifische Wärme von nativem Hämoglobin in Mischungen mit Wasser	c_2^n	1,53		1,60
partielle spezifische Wärme von denaturiertem Hämoglobin in Mischungen mit Wasser	c_2^d	1,82		1,93

Die partiellen spezifischen Wärmen gelten für Mischungen mit einem Massengehalt des Hämoglobins $w \leq 0,5$. Die Fehler der Meßwerte werden in den entsprechenden Abschnitten besprochen.

Für die Denaturierungsenthalpie des Hämoglobins in Mischungen mit Wasser bei einem pH-Wert von etwa 7,2 wurde ein Wert von $(15,9 \pm 0,5)$ J/g ermittelt.

7 Liste der verwendeten Symbole

$A_0, A_1, A_2,$	Korrekturterme zur Berechnung der
$A_3, A_4, A_5,$	spezifischen Wärme einer Probe .
A'_1, A'_2, A'_4	
a_1, a_2, a_3	Koeffizienten der Ausgleichsfunktion für die spezifische Wärme bzw. Wärmekapazität .
C_P	Wärmekapazität einer Probe ¹⁾ .
C_{Kox}	Wärmekapazität einer flüssigen Probe unter Koexistenz mit dem Dampf .
C^V	Wärmekapazität des vollen Kerns, wenn darin eine Probe unter Koexistenzbedingung gemessen wird .
C_P^G	Wärmekapazität eines Glasröhrchens, in dem eine flüssige Probe eingeschlossen ist .
C_P^K	Wärmekapazität des Kalorimeterkerns, mit oder ohne Probe .
C_P^L	Wärmekapazität der durch die Probe verdrängten Luft .
C_P^l	Wärmekapazität des leeren Kalorimeterkerns .
c_P	spezifische Wärme einer Probe .
c_1	spezifische Wärme der Phase 1 (Wasser) .
c_2	spezifische Wärme der Phase 2 (Dampf) .
c_1^*	isobare spez. Wärme von Wasser bei Koexistenzdruck .
c_2^*	isobare spez. Wärme von Dampf bei Koexistenzdruck .

1) Die Wärmekapazitäten, Molwärmen, spezifischen Wärmen und partiellen spezifischen Wärmen gelten i.a. bei konstantem Normaldruck. Gelten andere Bedingungen, so wird dies vermerkt.

c_1^M	Molwärme von Wasser .
c_2^M	Molwärme von Dampf .
c_1^{M*}	isobare Molwärme von Wasser bei Koexistenzdruck .
c_2^{M*}	isobare Molwärme von Dampf bei Koexistenzdruck .
c_1^d	partielle spezifische Wärme von Wasser in Mischungen mit denaturiertem Hämoglobin.
c_1^n	part. spez. Wärme von Wasser in Mischungen mit nativem Hämoglobin .
c_2^d	part. spez. Wärme von denaturiertem Hämoglobin in Mischungen mit Wasser .
c_2^n	part. spez. Wärme von nativem Hämoglobin in Mischungen mit Wasser .
δc_P	gesamter zu erwartender Fehler für die spez. Wärme einer Probe .
$\delta_L c_P$	systematischer Fehler in c_P durch die Luftverdrängung einer Probe .
$\delta_T c_P$	Fehler in c_P durch einen Fehler in T .
δf	Flächenelement .
H	Enthalpie eines Systems .
Δh	Denaturierungsenthalpie bezogen auf die Masse der Mischung .
Δh_2	Denaturierungsenthalpie bezogen auf die Masse des Hämoglobins in der Mischung.
I	elektrischer Strom .
i	Index .
$\dot{I}$	Wärmestromdichte .
L	elektrische Leistung der Kernheizung .
δL_D	Fehler in der Leistung durch Wärmestrom infolge einer Drift des Nullpunktes .
δL_R	bei der Regelung maximal möglicher Fehler durch Wärmestrom .

δL_{RD}	maximal auftretender Fehler durch Wärmestrom während des Denaturierungsvorganges für $w \approx 0,5$.
δL_{el}	Fehler in der Bestimmung der elektrischen Leistung .
δL_{nl}	verbleibender Fehler nach einer linearen Korrektur der Nullpunktsdrift .
M	Masse von Gewichten der Waage .
m	Masse einer Probe .
m_M	Masse einer Protein-Wasser-Mischung .
m_t	Trockenmasse einer Probe .
m_1	Masse der Komponente bzw. Phase 1 (Wasser) .
m_2	Masse der Komponente bzw. Phase 2 (Hämoglobin bzw. Wasserdampf) .
δm	Fehler in der Massenbestimmung .
δm_t	Fehler in der Bestimmung der Trockenmasse .
N	gesamte Molzahl aller Komponenten (bzw. Phasen) eines Systems .
N_T	Anzahl von Thermopaaren einer Thermosäule .
P	Druck .
P^0	Normaldruck .
P^i	Integrationsvariable .
P^*	Dampfdruck .
Q	Nettoqärmestrom für den Kalorimeterkern .
q	infinitesimale Wärmemenge .
R	Gaskonstante .
R_N	Normalwiderstand .
δR_N	Unsicherheit in R_N nach dem Eichprotokoll .
S	Entropie eines Systems .

s_1	molare Entropie von Wasser .
s_2	molare Entropie von Wasserdampf .
Δs_1	molare Entropiedifferenz von Wasser zwischen Dampfdruck und Normaldruck .
T	Temperatur .
t	Zeit .
T_F	Temperatur des Temperaturfühlers im Mantel .
T_K	mittlere Oberflächentemperatur des Kalorimeterkerns .
T_M	mittlere Oberflächentemperatur des adiabatischen Mantels .
T_P	Temperaturdifferenz zwischen der Tempe- ratur des Temperaturfühlers und der mittleren Temperatur der Probe .
$\Delta T/\Delta t$	Temperaturanstieg des Kalorimeters in dem Zeitintervall Δt .
δT_{KM}	bei der Regelung maximal auftretende Temperaturdifferenz zwischen Kern und Mantel .
δT_{RD}	Fehler in der Temperaturangabe während des Denaturierungsvorganges .
$\delta \Delta T$	Fehler in der Messung des Temperatur- anstiegs .
$\delta \Delta T_0$	Fehler in der Temperaturkonstanz bei der Nullpunktseinstellung .
Δt	Zeitintervall .
$\delta \Delta t$	Fehler in der Messung des Zeitinter- valls Δt .
U	elektrische Spannung .
U_{DTS}	Thermospannung der Differenzthermo- säule .
U_H	elektrische Spannung an dem Heiz- widerstand des Kalorimeterkerns .

U_N	elektrische Spannung an einem Normalwiderstand .
$u(T_{Ki} - T_{Mi})$	Thermospannung des i-ten Thermopaars der Thermosäule .
δU_H	Fehler in der Messung von U_H .
δU_N	Fehler in der Messung von U_N .
V	Volumen eines Systems .
V_L	Volumen der durch eine Probe verdrängten Luft .
V_i	Volumen der i-ten Komponente eines Systems .
v_i	Molvolumen der i-ten Komponente eines Systems .
$w = w_2$	Massengehalt des Proteins in einer Mischung mit Wasser .
w_{el}	infinitesimale elektrische Arbeit, die an einem System geleistet wird .

ρ	Dichte .
ρ_{H_2O}	Dichte von Wasser .
ρ_L	Dichte von Luft .
ρ_W	Dichte der Waagengewichte .
ρ_D	Dichte von Wasserdampf .
ρ_i	Dichte der i-ten Komponente eines Systems .
$d\tau$	Volumenelement .

8 Literaturverzeichnis

- 1 Berger R.L. : Human Isoionic Hemoglobin: Preparation and Kinetic Properties. Univ. San Diego La Jolla, Anal. Let., 6 (2), (1973) 125-138 .
- 2 Bronson H.L., H.M. Chisholm, S.M. Dockerty : On the Specific Heats of Tungsten, Molybdenum and Copper. Can. J. Phys. 8 (1933) 282 .
- 3 Bull H.B., K. Breese : Protein Hydration I. Binding-sites. Arch. of Biochem. and Biophys. 128 (1968) 488-496 .
- 4 Bull H.B., K. Breese : Protein Hydration II. Specific Heat of Egg Albumin. Arch. of Biochem. and Biophys. 128 (1968) 497-502 .
- 5 Drabkin D.L., J.H. Austin : Spectrometric Studies V. A Technique for the Analysis of Undiluted Blood and Concentrated Hemoglobin Solutions. J. Biol. Chem. 112 (1935-1936) 105 .
- 6 Eisenberg D., W. Kauzmann : The Structure and Properties of Water. Oxford: University Press (1968) .
- 7 Guggenheim E.A. : Thermodynamics. 5th Revised Edition, Amsterdam: North-Holland Publ. Co. (1967) .
- 8 Hinson J.A., T.L. McMeekin : A Rapid Method for Preparation Crystallin Human Haemoglobin and the Separation of Crystallin Haemoglobin A in Quantity. Univ. South Carolina, Columbia, march 6 (1969); Biochem. and Biophys. Res. Comm. Vol 35, No. 1 (1969) .
- 9 Kortüm G. : Einführung in die chemische Thermodynamik. Weinheim/Bergstr.: Vandenhoeck u. Ruprecht, Göttingen, Verlag Chemie GmbH .
- 10 Landolt-Börnstein : Zahlenwerte und Funktionen. 6. Auflage IV. Bd., 4. Teil, S. 520, Berlin: Springerverlag (1955) .

- 11 Menges G. : Der Aktivitätskoeffizient von KCl in hochkonzentrierten Hämoglobinlösungen und Erythrozyten. Dissertation Univ. Erlangen-Nürnberg (1973) .
- 12 Milbers P. : Aufbau und Arbeitsweise eines adiabatischen Kalorimeters zur Messung spezifischer Wärmen organischer Substanzen. Diplomarbeit, Univ. Erlangen-Nürnberg (1969) .
- 13 Milbers P. : Ein Präzisionskalorimeter zur Messung der spezifischen Wärmen von biochemischen Substanzen im Temperaturbereich von 5 °C bis 40 °C. Dissertation, Univ. Erlangen-Nürnberg (1973) .
- 14 Müller R. : Konstruktion eines adiabatischen Präzisionskalorimeters zur Bestimmung der spezifischen Wärmen fester und flüssiger Stoffe. Diplomarbeit, Univ. Erlangen-Nürnberg (1973) .
- 15 Osborne N.S.,
H.F. Stimson,
D.C. Ginnings : Measurements of Heat Capacity and Heat of Vaporization of Water in the Range 0° to 100 °C. J. Res. Nat. Bur. Std. 23 (1939) 197-261 .
- 16 Pauly H. : Über den physikalisch-chemischen Zustand des Wassers und der Elektrolyte in der lebenden Zelle. Biophysik 10 (1973) 7-32 .
- 17 Pilz W.,
I. Johann,
A.T. Boo : Die Bestimmung von Methämoglobin im menschlichen Blut. Intern. J. Environ. Anal. Chem. 2 (1973) 179-201 .
- 18 Pressler G. : Regelungstechnik I Grundelemente. Mannheim: B.I. Hochschultaschenbücher (1967) .
- 19 Surgenor D. MacN. : The Red Blood Cell. Vol II, New York: Academic Press (1975) .
- 20 Tanford C. : The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes. New York: John Wiley & Sons (1973) .

- 21 Tretter N. : Der Aktivitätskoeffizient von
NaCl in hochkonzentrierten Hä-
moglobinlösungen und in Erythro-
zyten. Dissertation, Univ. Er-
langen-Nürnberg (1975) .

- 22 Walden E., Ein neuartiger elektronischer
W. Rosenberg : Zweipunktregler für Temperatur.
Herausgegeben von Hartman und
Braun, Meß- und Regelungstechnik .

- 23 Procès-Verbaux Comité International Poids et Mesures
22 (1950) 92 .

9 Verzeichnis der verwendeten Geräte

- 1 der adiabatische Mantel und der erste Schutzmantel werden geheizt mit Hilfe eines Spannungskonstanter T 4; 80; 1 der Firma GOSSEN, Erlangen und einem Heizwiderstand aus ISOTAN der Firma ISABELLENHÜTTE HEUSLER K.G., Dillenburg; der zweite Schutzmantel wird mit Hilfe eines Thermostaten der Firma HAAKE, Berlin geheizt oder gekühlt .
- 2 die Differenzthermosäule besteht aus 8 Thermopaaren aus Kupfer-ISOTAN, die Drähte sind von der Firma ISABELLENHÜTTE HEUSLER K.G., Dillenburg .
- 3 der Regler ist ein Zweipunktregler mit verzögert nachgebender Rückführung mit elektronischen Relais und optischer Kopplung zwischen Meß- und Heizstromkreis; der Regler wurde in Eigenbau hergestellt .
- 4 Quarztemperaturfühler 2850A der Firma HEWLETT a. PACKARD, Avondale, Pennsylvania .
- 5 QARTZ THERMOMETER 2801A mit einer Auflösung von 10^{-5} K der Firma HEWLETT a. PACKARD, Avondale, Pennsylvania .
- 6 HOCHKONSTANTSTROMQUELLE KSQ 10 der Firma KISCH, Albstadt .
- 7 TYPE K-5 POTENTIOMETER 7555 der Firma LEEDS a. NORTHRUP, Philadelphia .
- 8 quarzstabilisierte Uhr, Eigenbau .
- 9 TELETYPE-FERNSCHREIBER ASR 33 (mit Punch) der Firma TELETYPE CORPORATION, Skokie, Illinois .
- 10 9834 GUARDED D-C NULL DETECTOR der Firma LEEDS a. NORTHRUP, Philadelphia .
- 11 Motorpotentiometer der Firma MEGATRON, München .
- 12 Umschalter mit gekapselten Goldkontakten, Eigenbau .
- 13 Normalwiderstand 4020-B der Firma LEEDS a. NORTHRUP, Philadelphia .
- 14 Analysenwaage der Firma METTLER, Zürich .
- 15 NANOVOLTMETER 148 der Firma KEITHLEY INSTRUMENTS, INC., Cleveland, Ohio .

- 16 SARTORIUS-MEMBRANFILTER der Firma SARTORIUS-MEMBRANFILTER GmbH, Göttingen .
- 17 DACON-SCANNER Interface der Firma ELEKTRONIK-SERVICE GmbH, Frankfurt .
- 18 SPECTROPHOTOMETER MODEL 24 der Firma BECKMAN INSTRUMENTS, INC., Fullerton .

Herrn Prof. Dr. Dr. H. Pauly danke ich herzlich für die Überlassung der Arbeit und für die großzügige materielle Unterstützung bei der Durchführung. Sein kritisches aber wohlwollendes Interesse an der Arbeit hat wesentlich zu einer Präzisierung der Schlußfolgerungen aus den Meßergebnissen geführt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. G. Hasl, der mit vielen Ratschlägen und steter Bereitschaft zur Diskussion die Arbeit förderte.

Herrn Dr. P. Milbers danke ich, daß er mir so hilfsbereit seine reichen Erfahrungen im Kalorimeterbau zu kommen ließ.

Herrn F. Lehmeier, Werkmeister, und Herrn R. Schrenker, Elektroniker, gebührt nicht weniger Dank. Ihre Hilfe bei der Konstruktion des Kalorimeters und ihre fachlichen Ratschläge trugen viel zum Gelingen der Arbeit bei.

Allen Kolleginnen und Kollegen danke ich für zahlreiche Diskussionen und für die freundschaftliche Atmosphäre am Institut für Radiologie.

An dieser Stelle sei auch meiner Frau und meinem Sohne gedankt, die es mir durch Ermunterungen und so manche Rücksicht ermöglichten, diese Arbeit fertigzustellen.

Lebenslauf

Ich, Reinhold Müller, wurde am 9.7. 1946 als fünftes Kind des Dr. Otto Müller, Diplomchemiker, und seiner Frau Helene Müller, geborene Gerstle, in Ludwigsburg geboren.

Im Frühjahr 1953 kam ich in die Schule. Nach der Grundschule besuchte ich das Friedrich Schiller-Gymnasium in Ludwigsburg, das ich 1966 mit dem Reifezeugnis verließ.

Zum Januar 1967 wurde ich einberufen, meinen Grundwehrdienst abzuleisten.

Im September 1967 heiratete ich meine Frau Erika Müller, geborene Maser.

Nachdem ich im April 1968 von der Bundeswehr entlassen wurde, begann ich mein Studium der Physik an der FAU-Erlangen-Nürnberg. Die Vorprüfung in diesem Fach legte ich im Sommersemester 1970 ab. Die Diplomarbeit fertigte ich an dem Institut für Radiologie (damals Institut für Physikalische und Medizinische Strahlenkunde) der Universität Erlangen-Nürnberg an. Ich schloß mein Studium im Februar 1974 als Diplomphysiker ab.

Seit 1974 arbeite ich an dem oben genannten Institut auf dem Gebiet kalorimetrischer Untersuchungen biologischer Substanzen.

Copy-Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197